

# VERGLEICH VON BOOLESCHER UND KONTINUIERLICHER DYNAMIK AUF GENREGULATIONSNETZWERKEN



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

Vom Fachbereich Physik  
der Technischen Universität Darmstadt

zur Erlangung des Grades  
eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigte Dissertation von

M.Sc. Eva Ackermann  
aus Darmstadt

Referentin: Prof. Dr. Barbara Drossel  
Technische Universität Darmstadt

Korreferent: Prof. Dr. Kay Hamacher  
Technische Universität Darmstadt

Tag der Einreichung: 10.10.2012

Tag der Prüfung: 10.12.2012

Hochschulkennziffer: D 17

Darmstadt 2012



## ZUSAMMENFASSUNG

---

In dieser Arbeit wird das dynamische Verhalten von Genregulationsnetzwerken untersucht: Kontinuierliche Dynamik für mRNA- und Protein-Konzentrationen wird mit einem Booleschen Modell der Genregulation verglichen.

Zunächst sind die betrachteten Netzwerke einfache Feedback-Schleifen oder solche mit einer zusätzlichen internen Verknüpfung. Durch die Anwendung einer generalisierten linearen Stabilitätsanalyse können verschiedene kontinuierliche Modelle und verschiedene Arten von regulatorischen Funktionen untersucht werden, und Bedingungen dafür definiert werden, dass ein System stabile Oszillationen oder Fixpunkte aufweist. Diese Bedingungen hängen nur von allgemeinen Eigenschaften des Systems ab, wie dem Verhältnis der Zeitskalen, dem Grad der Kooperativität der Interaktionen und der logischen Struktur des Netzwerks. Die Ergebnisse dieser Analyse können verschiedene Ergebnisse früherer Studien kombinieren und verallgemeinern. Durch die systematische Untersuchung dieser kleinen Netzwerke wird zudem festgestellt, dass es keine einfachen Regeln für die Entscheidung gibt, wann Boolesche und kontinuierliche Dynamik miteinander übereinstimmen. Es können jedoch mehrere Kriterien identifiziert werden.

Um diese Kriterien zu bestätigen, werden im zweiten Teil der Arbeit robuste Genregulationsnetzwerke mit „vollständig zuverlässigen“ Trajektorien untersucht. In der Booleschen Darstellung sind diese Trajektorien robust gegenüber Fluktuationen in der Reihenfolge, in der die Knoten aktualisiert werden. Das Boolesche Modell für Genaktivität wird mit einer kontinuierlichen Beschreibung in Form von Differentialgleichungen für die Konzentrationen von mRNAs und Proteinen verglichen. Diese vollständig zuverlässigen Booleschen Trajektorien können perfekt durch das kontinuierliche Modell reproduziert werden, wenn passende Regulationsfunktionen verwendet werden. Es wird zudem untersucht, inwieweit diese hohe Übereinstimmung zwischen den Booleschen und kontinuierlichen Oszillationen vom Ausmaß der Zuverlässigkeit der Booleschen Trajektorie abhängt. Es werden Kriterien identifiziert, wie etwa der Einfluss der Zustandsdauer einzelner Knoten, die bestimmen wann eine gute Wiedergabe der Booleschen Dynamik in der kontinuierlichen Beschreibung möglich ist.

Nach den Ergebnissen dieser Arbeit, stimmt die Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells für solche Netzwerke überein, die robust gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge sind. Das bedeutet, dass für solche Systeme, die auch bei Rauschen zuverlässig ablaufen müssen, die anschauliche Boolesche Beschreibung eine angemessene Repräsentation des biologischen Systems ist. Daher bilden die Ergebnisse dieser Arbeit eine Grundlage für auf ihnen aufbauende Forschung in Form von angewandten sowie theoretischen Studien und sind aus diesem Grund für weite Bereiche der biophysikalischen Forschung von Bedeutung.

## ABSTRACT

---

In this thesis, the dynamical behavior of gene regulatory networks is investigated: Continuous dynamics for mRNA and protein concentrations is compared to a Boolean model for gene activity.

First, the considered networks are simple loops or loops with an additional internal regulating connection. Using a generalized linear stability analysis, different continuous models and different types of regulatory functions can be studied within a single framework, and conditions under which the system can display stable oscillations or stable fixed points are established. These conditions only depend on general features such as the ratio of the relevant time scales, the degree of cooperativity of the regulating interactions and the logical structure of the interactions. The results combine and generalize the findings of several previous studies. Based on the systematic study of these small networks, it is found that there are no simple rules for deciding when Boolean and continuous dynamics agree with each other. However, several relevant criteria can be identified.

In order to confirm these criteria, in the second part of this thesis, robust gene regulatory networks which possess “entirely reliable” trajectories are studied. In a Boolean representation, these trajectories are characterized by being insensitive to the order in which the nodes are updated, i.e., they always go through the same sequence of states. The Boolean model for gene activity is compared to a continuous description in terms of differential equations for the concentrations of mRNAs and proteins. These entirely reliable Boolean trajectories can be perfectly reproduced in the continuous model when appropriate regulating functions are used. It is investigated to what extent this high correspondence between Boolean and continuous trajectories depends on the extent of reliability of the Boolean trajectories. Furthermore, simple criteria which enable the faithful reproduction of the Boolean dynamics in the continuous description are identified, for example the influence of the flip duration of individual nodes.

According to the results of this thesis, the dynamics between the Boolean and continuous model are in agreement for those networks that are robust against fluctuations in the update sequence. This means that for systems, which need to be robust against noise, the simplified Boolean approach is a faithful, albeit conceptual, representation of the real biological system. Therefore, the results of this thesis may spark further research in the form of, both, practical applications as well as theoretical studies, and thus, they are of importance for a wide audience in biophysics.



# INHALTSVERZEICHNIS

---

1	EINLEITUNG	1
1.1	Motivation	1
1.2	Ziele und Nutzen	5
1.3	Aufbau der Arbeit	7
2	GRUNDLAGEN	9
2.1	Netzwerke	9
2.1.1	Netzwerk-Topologie und -Dynamik	10
2.1.2	Anwendungsbeispiele für die Beschreibung komplexer Systeme durch Netzwerke	12
2.1.3	Abwägung des geeigneten Abstraktionslevels	14
2.2	Biologischer Hintergrund	16
2.2.1	Zelle	16
2.2.2	Genexpression	17
2.2.3	Genregulationsnetzwerke	20
2.2.4	Mathematische Modelle der Genregulation	22
2.3	Kontinuierliche Modellierung	30
2.3.1	Differentialgleichungen	30
2.3.2	Regulationsfunktionen	31
2.3.3	Lineare Stabilitätsanalyse	36
2.3.4	Generalisierte Methode	39
2.4	Boolesche Modellierung	43
2.4.1	Boolesche Funktionen	43
2.4.2	Boolesche Dynamik	45
2.4.3	Untersuchung der Booleschen Dynamik eines Beispiel-Systems	46
3	UNTERSUCHUNG VON NETZWERKEN MIT GLEICHEN TOPOLOGISCHEN EIGENSCHAFTEN	49
3.1	Einfache Feedback-Schleifen	50
3.1.1	Netzwerke aus zwei Genen	50
3.1.2	Netzwerke aus drei Genen	55
3.1.3	Verallgemeinerung auf N Gene	59
3.1.4	Ergebnisse der einfachen Feedback-Schleifen	62
3.2	Gekoppelte Feedback-Schleifen	64
3.2.1	Netzwerke aus zwei Genen	64
3.2.2	Netzwerke aus drei Genen	70
3.2.2.1	Selbstregulation	72
3.2.2.2	Quervernetzung	76
3.2.3	Verallgemeinerung auf N Gene	80
3.2.4	Diskussion der gekoppelten Feedback-Schleifen	85
3.3	Diskussion der Ergebnisse für Netzwerke mit gleicher Topologie	87

4	UNTERSUCHUNG VON NETZWERKEN MIT GLEICHEN DYNAMISCHEN EIGENSCHAFTEN	91
4.1	Einführung in Netzwerke mit zuverlässigen Trajektorien	91
4.2	Zuverlässige Trajektorien	94
4.2.1	Boolesches Modell	94
4.2.2	Übersetzung in das kontinuierliche Modell	95
4.2.3	Methode zum Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Trajektorien	96
4.3	Ergebnisse der Untersuchung von Netzwerken mit zuverlässigen Trajektorien	101
4.3.1	Ergebnisse der vollständig zuverlässigen Trajektorien	101
4.3.2	Ergebnisse der partiell zuverlässigen Trajektorien	104
4.4	Diskussion der Ergebnisse für Netzwerke mit gleichen dynamischen Eigenschaften	111
5	FAZIT UND AUSBLICK	115
	LITERATURVERZEICHNIS	119



## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

Abbildung 1	Die wichtigsten Schritte der Genregulation. 17
Abbildung 2	Wirkungsweise eines Aktivators. 19
Abbildung 3	Wirkungsweise eines Repressors. 21
Abbildung 4	Genregulation: Ein Protein wirkt als Transkriptionsfaktor. 21
Abbildung 5	Verschiedene mathematische Modelle für Genregulationsnetzwerke und ihre Eigenschaften. 26
Abbildung 6	Ein Beispiel eines Netzwerks aus zehn Knoten im kontinuierlichen Modell. 31
Abbildung 7	Die Hill-Funktion. 34
Abbildung 8	HillCube. 35
Abbildung 9	Möglichkeiten der Eigenwerte der Jacobi-Matrix und die daraus resultierende Dynamik. 38
Abbildung 10	Generalisierte Methode in Anwendung auf Genregulationsnetzwerke. 40
Abbildung 11	Beispiel eines Netzwerks mit zehn Knoten im Booleschen Modell. 43
Abbildung 12	Beispiel eines Booleschen Netzwerks aus drei Knoten. 46
Abbildung 13	Zustandsraum des Booleschen Netzwerks aus drei Knoten. 47
Abbildung 14	Boolesche Dynamik der einfachen Feedback-Schleife aus zwei Genen. 51
Abbildung 15	Regionen im Parameterraum der Feedback-Schleife aus zwei Genen, in denen der Fixpunkt instabil ist. 54
Abbildung 16	mRNA- und Protein-Konzentrationen des Netzwerks aus einem Aktivator und einem Inhibitor. 55
Abbildung 17	Bifurkationsflächen einer einfachen Feedback-Schleife aus drei Genen. 56
Abbildung 18	Boolescher Zustandsraum und kontinuierliche Oszillationen für eine Schleife aus drei Genen. 59
Abbildung 19	Boolescher Zyklus und kontinuierliche Oszillationen für eine ungerade Feedback-Schleife mit $N = 10$ Genen. 62

Abbildung 20	Regionen im Parameterraum des Systems der gekoppelten Feedback-Schleife aus zwei Genen, in denen der Fixpunkt instabil gegenüber Oszillationen ist. 65
Abbildung 21	Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik der gekoppelten Feedback-Schleife aus zwei Genen. 66
Abbildung 22	Projektion der zweidimensionalen Aktualisierungsfunktionen AND NOT, NOR und XOR. 67
Abbildung 23	Hopf-Bifurkationsflächen der gekoppelten Feedback-Schleife mit Funktionen $G_1$ AND NOT $G_2$ und $G_1$ NOR $G_2$ . 68
Abbildung 24	mRNA- und Protein-Konzentrationen des Moduls aus zwei Genen mit zusätzlicher Selbstregulation und $F_1 = G_1$ AND NOT $G_2$ . 69
Abbildung 25	mRNA- und Protein-Konzentrationen des Moduls aus zwei Genen mit zusätzlicher Selbstregulation und $F_1 = G_1$ NOR $G_2$ . 70
Abbildung 26	Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells einer Schleife aus drei Genen mit einer zusätzlichen Selbstregulation. 73
Abbildung 27	Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells einer Schleife aus drei Genen mit einer zusätzlichen Quervernetzung. 77
Abbildung 28	Bifurkationsflächen der Feedback-Schleife aus $N$ Genen. 82
Abbildung 29	Oszillationen der Konzentrationen in einem Netzwerk mit $N = 10$ Knoten und den Regulationsfunktionen $\times$ XOR $N$ und NOT $\times$ AND $N$ . 83
Abbildung 30	Mögliche dynamische Antworten eines Systems auf Stochastizität in der Aktualisierungsreihenfolge. 95
Abbildung 31	Vergleich der zuverlässigen Trajektorie eines Booleschen Netzwerks mit den Oszillationen des kontinuierlichen Modells. 96
Abbildung 32	Methode zum Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik für Netzwerke mit zuverlässigen Trajektorien. 97
Abbildung 33	Abweichung der kontinuierlichen Konzentrationen von den Booleschen Werten 0 und 1 abhängig vom Hill-Koeffizienten $n$ . 99

Abbildung 34	Anteil der vollständig zuverlässigen Trajektorien, die eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zeigen für verschiedene Größen $N$ der Netzwerke. 102
Abbildung 35	Anteil der vollständig zuverlässigen Trajektorien, die eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zeigen für unterschiedliche Längen $L$ der Trajektorien. 103
Abbildung 36	Anteil der Trajektorien, die eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zeigen, bei Variation des mittleren Hamming-Abstands $h$ . 105
Abbildung 37	Anteile der Netzwerke, in den verschiedenen Klassen Trajektorie, Oszillation, Regulärer Fixpunkt und Schwellwert-Fixpunkt. 107
Abbildung 38	Anteile der Netzwerke mit $ZD1\ SR = 0$ , in den Klassen Trajektorie, Oszillation, Regulärer Fixpunkt und Schwellwert-Fixpunkt. 108
Abbildung 39	Anteile der reproduzierten Trajektorien, die verschiedene Werte von $ZD1\ SR = 0$ zeigen. 109
Abbildung 40	Anteil der partiell zuverlässigen Trajektorien, die eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zeigen, wenn gilt, dass Zustandsdauer $ZD > 1$ . 110

## TABELLENVERZEICHNIS

---

Tabelle 1	Wahrheitstabelle der vier möglichen Booleschen Funktionen für einen Knoten mit nur einem Eingangsknoten. 44
Tabelle 2	Wahrheitstabelle der 16 möglichen Booleschen Funktionen für einen Knoten mit zwei Eingangsknoten. 44
Tabelle 3	Exponent-Parameter $\tilde{f}_{1p_j}$ und $\tilde{f}_{1p_3}$ für die betrachteten Regulationsfunktionen. 71
Tabelle 4	Zusammenfassung der Ergebnisse des Vergleichs für gekoppelte Feedback-Schleifen. 86

## ACRONYMS

---

DNA	Desoxyribonukleinsäure ( <i>engl.</i> Deoxyribonucleic acid)
RNA	Ribonukleinsäure ( <i>engl.</i> ribonucleic acid)
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure ( <i>engl.</i> messenger ribonucleic acid)
tRNA	Transfer-Ribonukleinsäure ( <i>engl.</i> transfer ribonucleic acid)
RNAp	RNA-Polymerase

## EINLEITUNG

---

### 1.1 MOTIVATION

*Komplexe Systeme* sind Systeme, die aus einer großen Zahl von heterogenen Bestandteilen aufgebaut sind, deren lokale Interaktionen verschiedene Level von kollektiver Organisation schaffen [1] und zu vielseitigem dynamischen Verhalten führen. Beispiele sind künstliche Systeme, wie das Internet oder Stromnetz aber auch natürliche Systeme, wie lebende Organismen. So lässt sich beispielsweise jede Zelle als ein komplexes System aus mehreren tausend Molekülen beschreiben. Um Leben besser zu verstehen, müssen biologische Systeme und ihre komplexen Mechanismen untersucht werden. Die traditionelle Molekularbiologie beschäftigt sich hauptsächlich mit der Form und Evolution der verschiedenen Moleküle. Dieser Ansatz reicht jedoch nicht aus, wenn für die Dynamik der Systeme die Wechselwirkungen zwischen den Molekülen eine wichtigere Rolle spielen als die Moleküle selbst. Dies ist beispielsweise beim Auftreten von Krankheiten wie Krebs, Herzversagen oder Diabetes mellitus der Fall, deren Entstehung und Entwicklung von den komplexen Interaktionen mehrerer Faktoren abhängen [2]. Diese Erkenntnis hat die während des 20. Jahrhunderts in der Genetik und Molekularbiologie vorherrschende Vorstellung verbannt, dass pro Funktion eines Systems ein individuelles Gen zuständig ist [3].

Vor diesem Hintergrund wurde eine Beschreibung der biologischen Prozesse auf der Ebene von interagierenden Molekülen, die koordiniert zelluläre Prozesse steuern, wichtiger. Systembiologen versuchen durch die Untersuchung der kollektiven Eigenschaften der Moleküle die Frage zu beantworten, wie biologische Systeme Stabilität oder Robustheit gegenüber Störungen entwickeln können. Es hat sich gezeigt, dass Zellen komplexe Netzwerke nutzen, um mehrere Prozesse zu koordinieren, und es damit erlauben, sich an die Umgebung anzupassen und auf Änderungen zu reagieren [4]. Aus diesem Grund sind viele biologische Systeme, wie z. B. der robuste Zellzyklus [5] oder zirkadiane Rhythmen [6], in der Lage trotz des Einflusses von

Rauschen, das Abweichungen der Dynamik vom deterministischen Verhalten bewirken kann, ein zuverlässiges und vorhersagbares Verhalten zu zeigen.

Um die Dynamik der komplexen Systeme zu beschreiben und zu untersuchen, können mathematische Modelle aufgestellt werden, die die ablaufenden biologischen Prozesse formalisieren. In den Worten des theoretischen Zellbiologen John Tyson [7] ähnelt die Aufgabe, biologische Systeme zu verstehen, der Herausforderung mit einer Tüte mit vielen Puzzleteilen umzugehen: Es ist nicht bekannt wie das Modell am Ende aussehen soll, d. h. es fehlt das Bild auf der Packung, es ist nicht sicher, ob alle Teile des Puzzles in der Tüte sind, und es gibt noch nicht einmal einen Tisch um zu testen, ob die Teile zusammen passen. Nach John Tyson liefert die mathematische Modellierung den Tisch für das Puzzle.

Durch die mathematische Modellierung biologischer Systeme kann beispielsweise der Zusammenhang zwischen der zellulären Funktion eines Systems und der Struktur des zugrundeliegenden Netzwerks erfasst werden. Zudem lässt sich die Frage beantworten, welches möglichen Verhalten durch ein gegebenes biologisches System erzeugt werden können [3]. Mit Hilfe von Computersimulationen oder mathematischer Analyse kann das Verhalten der biologischen Prozesse untersucht werden, um Inkonsistenzen zwischen Hypothesen und Beobachtungen zu finden und das Verhalten und die Kontrolle der Prozesse unter noch nicht getesteten Bedingungen zu analysieren.

Doch die Modellierung bringt neue Probleme mit sich, die zum einen auf der Größe der Netzwerke und zum anderen auf den komplexen Interaktionen zwischen den beteiligten Molekülen basieren: Durch die große Zahl an Parametern ist es oft schwierig, ein Modell mit experimentellen Daten zu vergleichen, und die nichtlinearen Interaktionen der Moleküle können zu einer komplexen Dynamik führen, deren Analyse sehr aufwendig ist. Eine Möglichkeit diese Schwierigkeiten anzugehen, ist die Wahl eines geeigneten Abstraktionslevels, denn die mathematische Beschreibung der nichtlinearen Interaktionen folgt jeweils dem gewählten Paradigma des mathematischen Modells, das die Regeln für die Repräsentation der biologischen Prozesse spezifiziert und damit auch die Komplexität des Systems bestimmt [2].

In dieser Arbeit geht es um verschiedene mathematische Modelle für Netzwerke, mit deren Hilfe einige Interaktionen der *Genexpression* modelliert werden können. Genexpression bezeichnet den vielschichtigen Vorgang, durch den genetische Information, die in Form von Genen auf der Desoxyribonukleinsäure (*engl.* Deoxyribonucleic acid) (DNA) gespeichert ist, in Proteine umgewandelt wird. Dies geschieht durch die Prozesse der Transkription der DNA in Boten-Ribonukleinsäure (*engl.* messenger ribonucleic acid) (mRNA) und der Translation der mRNA in Proteine [8]. Die Proteine können in der Zelle verschiedene Aufgaben übernehmen, wie beispielsweise die Mitwirkung bei Transportprozessen oder die Katalyse von Reaktionen. Ein bestimmter Typ von Proteinen sind sogenannte Transkriptionsfaktoren, die selbst wieder an die DNA binden und die Rate regulieren können, mit der ein Gen in mRNA transkribiert wird.

Für die Modellierung dieses Prozesses werden sogenannte *Genregulationsnetzwerke* aufgestellt, die typischerweise die Zustände einer oder mehrerer Arten der beteiligten Moleküle (Gene, mRNAs und Transkriptionsfaktoren) als Knoten modellieren. Die Knoten sind untereinander durch Kanten verknüpft, die die physikalischen Interaktionen und kausalen Beziehungen der Genregulation darstellen [2]. Auch für Genregulationsnetzwerke existieren mathematische Modelle mit unterschiedlichen Abstraktionsniveaus.

Realistische Modelle der Genregulation bestehen aus Ratengleichungen für die Konzentrationen der beteiligten Makromoleküle, d. h. der mRNAs und Proteine. Die Veränderung der Konzentration geschieht dabei kontinuierlich in der Zeit und auch die Konzentrationen selbst haben kontinuierliche Werte. Für den quantitativen Vergleich der kontinuierlichen Modelle mit biologischen Daten dienen biologische Experimente, die zudem auch kinetische Parameter für das Modell liefern können [9]. Wenn die Parameter variiert werden, können kontinuierliche Modelle verschiedene Arten von dynamischem Verhalten zeigen, beispielsweise in Form von Fixpunkten oder Oszillationen.

Neben diesem detaillierten, quantitativen Zugang werden die generellen Eigenschaften der Genregulation auch durch eine minimalistische, dynamische Beschreibung als Boolesches Netzwerk wiedergegeben. In diesen Modellen wird die Zeit diskret modelliert und der Zustand eines Gens ist entweder „an“ oder „aus“ [10, 11]. Damit reduzieren Boolesche Modelle die hohe Komplexität eines Systems auf ein Problem mit logischer Struktur und wenigen Variablen. Es kann

te gezeigt werden, dass Boolesche Modelle die korrekte Abfolge von Ereignissen in bestimmten Genregulationsnetzwerken reproduzieren können, wie z. B. für das Netzwerk des Zellzyklus von Hefe [5, 12]. Das bedeutet, dass für das Verständnis vieler Eigenschaften von Genregulationsnetzwerken keine detaillierte Modellierung nötig ist, sondern Boolesche Modelle ausreichen können. Die Untersuchung dieser Modelle hat damit großes Potential, grundlegende Mechanismen der biologischen Prozesse zu offenbaren. Eine Schwäche der Booleschen Modelle ist jedoch die Gegenwart dynamischer Artefakte durch die Diskretisierung der Zeit und der Konzentrationswerte. Aus diesem Grund gibt es Situationen, in denen die Vereinfachungen der Booleschen Modelle nicht angemessen sind [13, 14, 15].

Der Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik der Genregulationsnetzwerke zeigt zudem, dass es keine einfachen Regeln gibt, wann die Dynamik des abstrakten Booleschen Modells mit der des kontinuierlichen Modells übereinstimmt [16, 17, 18], doch gerade aufgrund der Einfachheit und Transparenz der Booleschen Beschreibung lohnt es sich zu wissen, unter welchen Bedingungen die Boolesche Modellierung ausreichend ist.



## 1.2 ZIELE UND NUTZEN

Im Rahmen dieser Arbeit wird die Boolesche und kontinuierliche Dynamik von Genregulationsnetzwerken gegenübergestellt. Es wird untersucht, in welchen Fällen die rechentechnisch günstigere und anschaulichere Boolesche Beschreibung ausreichend ist, d. h. unter welchen Bedingungen die Dynamik des abstrakten Booleschen Modells mit der des kontinuierlichen Modells übereinstimmt. Das Ziel dieser Arbeit ist es, die Boolesche und kontinuierliche Dynamik spezieller Netzwerke im Kontext der Genregulation systematisch zu vergleichen und verschiedene Kriterien zu definieren, wann eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Modellen gefunden werden kann.

Um diese Kriterien zu definieren werden im ersten Schritt Netzwerkmodule untersucht, die untereinander eine ähnliche Topologie aufweisen: Es werden *einfache* und *gekoppelte Feedback-Schleifen* mit steigender Netzwerkgröße betrachtet. Begonnen wird mit dem kleinstmöglichen dieser Netzwerke aus nur zwei Genen, bevor die Untersuchung auf drei und schließlich N Gene verallgemeinert wird. Damit die Ergebnisse nicht von der spezifischen Parameterwahl abhängen, sondern von allgemeinen Eigenschaften der Regulationsfunktionen, wird die Methode der *generalisierten Modelle* [19] verwendet. Diese erlaubt es, die Stabilität von Fixpunkten und das Auftreten von Oszillationen in Abhängigkeit von allgemeinen Merkmalen des Systems zu untersuchen, ohne die Konzentrationen des Gleichgewichtszustands oder die regulatorischen Funktionen genau bestimmen zu müssen. Dadurch wird für die speziellen Module der Genregulationsnetzwerke eine viel umfassendere Untersuchung ermöglicht, als es in früheren Studien [16, 17, 18] der Fall war, da alle Klassen von logischen Funktionen und ein breites Spektrum an Parameterwerten für unterschiedliche Größen eines Netzwerks untersucht werden können. Mit Hilfe dieser Analyse sollen Kriterien für eine gute Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik definiert werden, die unabhängig von den topologischen Merkmalen des Netzwerks sind und auf dynamischen Eigenschaften basieren.

Darauf aufbauend werden im nächsten Schritt Netzwerke untersucht, die keine spezielle Topologie aufweisen, sondern gemeinsame Eigenschaften der dynamischen Trajektorien zeigen: Im Booleschen Modell haben diese Netzwerke *vollständig zuverlässige Trajektorien*, die

robust gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge sind [20]. Für diese speziellen Trajektorien werden nicht spezifische, individuelle Netzwerke analysiert, sondern tausende Netzwerke verschiedener Größe mit Trajektorien verschiedener Länge. Um die Auswirkung der Robustheit gegenüber zeitlichen Fluktuationen auf die Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik bestimmen zu können, werden anschließend die Ergebnisse der vollständig zuverlässigen Trajektorien mit denen von sogenannten *partiell zuverlässigen Trajektorien* verglichen.

In dieser Arbeit werden somit zum einen Netzwerke gleicher Topologie und zum anderen Netzwerke mit gleichen dynamischen Eigenschaften betrachtet, um anhand beider Aspekte zu untersuchen, welche Kriterien zu einer guten Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik führen. Mit Hilfe der daraus gewonnenen Erkenntnisse soll grundsätzlich analysiert werden, unter welchen Bedingungen auf realistischen Netzwerken eine robuste Dynamik abläuft, die durch Boolesche Modelle gut erfasst wird. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse der Untersuchung der abstrakten Genregulationsnetzwerke im Laufe der Arbeit mit echten biologischen Netzwerken verglichen. Dadurch können Rückschlüsse auf die Eigenschaften dieser echten Systeme gezogen werden, da für den Fall, dass die Boolesche Beschreibung für diese Systeme ausreichend ist, auch die gefundenen Kriterien für die Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik erfüllt sein müssen.

Basierend auf den Ergebnissen dieser Arbeit kann entschieden werden, wann das abstrakte Boolesche Modell, das mit weniger Parametern auskommt, intuitiv verständlich ist und weniger Rechenzeit benötigt, für eine qualitative Betrachtung eines Systems angemessen ist und unter welchen Umständen der vorhergesagten Dynamik vertraut werden kann.

### 1.3 AUFBAU DER ARBEIT

Die Arbeit ist wie folgt aufgebaut. Kapitel 2 beschreibt die Grundlagen der Arbeit und beginnt mit einer allgemeinen Einführung zu Netzwerken, bevor näher auf den biologischen Hintergrund, d. h. die einzelnen Prozesse der Genregulation und die Mechanismen von Genregulationsnetzwerken eingegangen und ihre mathematische Modellierung vorgestellt wird. Anschließend werden die beiden betrachteten Modelle eingeführt: zum einen die kontinuierliche Modellierung und die Verwendung der generalisierten Methode (Abschnitt 2.3) und zum anderen die Boolesche Modellierung (Abschnitt 2.4).

Kapitel 3 behandelt die Untersuchung von Netzwerken gleicher Topologie: Für einfache Feedback-Schleifen (Abschnitt 3.1) und gekoppelte Feedback-Schleifen (Abschnitt 3.2) aus zwei oder drei Genen wird der Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik, die daraus resultierenden Bedingungen für eine Übereinstimmung, und die Verallgemeinerung dieser Module auf größere Netzwerke beschrieben.

In Kapitel 4 wird zu Netzwerken gleicher Dynamik übergegangen: Es wird die Auswirkung der Robustheit der Trajektorien gegenüber zeitlichen Fluktuationen auf die Übereinstimmung der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik untersucht. Nach einer generellen Einführung in zuverlässige Trajektorien (Abschnitt 4.1) und der Beschreibung der Methode zum Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik (Abschnitt 4.2), werden in Abschnitt 4.3 die Ergebnisse der Untersuchung der vollständig und partiell zuverlässigen Trajektorien vorgestellt.

In Kapitel 5 werden die Ergebnisse dieser Arbeit zusammengefasst und diskutiert.



## GRUNDLAGEN

---

Dieses Kapitel stellt die Grundlagen der Arbeit vor. Im folgenden Abschnitt werden Netzwerke als mögliche Formulierung komplexer Systeme eingeführt (Abschnitt 2.1), bevor die biologischen Grundlagen der Genregulation beschrieben werden (Abschnitt 2.2). Abschnitt 2.3 und Abschnitt 2.4 stellen die beiden Modellierungsarten vor, die im Rahmen dieser Arbeit verglichen werden, zum einen kontinuierliche Modelle in Form von Differentialgleichungen und zum anderen Boolesche Netzwerke.

### 2.1 NETZWERKE

Für viele wissenschaftliche Probleme ist es nicht möglich das Verhalten eines Systems durch das Verständnis der elementaren Bestandteile und ihrer individuellen Wechselwirkungen vorherzusagen. Stattdessen müssen die einzelnen Elemente in Form von mathematischen Modellen zusammengefügt werden, die das gesamte Ensemble umfassend beschreiben und die Schlüsseleigenschaften des komplexen Systems erfassen [21].

Der Wunsch, komplexe Systeme zu beschreiben, ließ auch das Interesse an Netzwerken wachsen, da sie für einige Systeme eine gute Möglichkeit sind, die vielschichtigen Strukturen in einem Modell darzustellen [22]. Beispiele für solche netzwerkartigen komplexen Systeme sind Zellen, die ein Netzwerk aus Molekülen beinhalten, die durch chemische Reaktionen verknüpft sind, das Internet ist ein komplexes Netzwerk aus Rechnern oder Servern, verbunden durch verschiedene physische oder drahtlose Verbindungen, das World Wide Web ist ein enormes virtuelles Netzwerk aus Webseiten, die durch Hyperlinks verlinkt werden [23], und Ideen breiten sich auf sozialen Netzwerken aus, in denen Menschen durch soziale Beziehungen interagieren. Weitere Beispiele komplexer Systeme sind u. a. elektrische Stromnetze, neuronale Netzwerke oder Straßenverkehrsnetzwerke [22, 24].

Die zugrundeliegende Struktur von Netzwerken lässt sich mathematisch als Graph modellieren, und so ging die Untersuchung komplexer Netzwerke traditionell aus der Graphentheorie hervor [23]. Diese hatte ihren Ursprung im Königsberger Brückenproblem, das Leonhard Euler im Jahr 1736 vorstellte. Er stellte sich die Frage, ob man Königsberg so durchqueren kann, dass jede der sieben Brücken genau einmal überquert wird, um schließlich wieder am Startpunkt anzukommen. Zur Lösung dieses Problems erfand Euler das Konzept der Graphen, die aus Knoten bestehen, die über Kanten verbunden sind. Damit ließ sich das Brückenproblem gut lösen, und auch viele andere Probleme lassen sich in Form von Netzwerken definieren [24].

### 2.1.1 Netzwerk-Topologie und -Dynamik

Wenn ein Netzwerk beschrieben werden soll, kann in einem ersten Schritt seine Struktur, oder *Topologie*, erfasst werden, bevor dynamische Eigenschaften des Systems betrachtet werden. In dieser Arbeit wird davon ausgegangen, dass sich die Topologie des Netzwerks nicht mit der Zeit ändert, d. h. dass sowohl die Größe als auch die Verknüpfungen des Systems fest sind. Es findet jedoch durch die Interaktionen der Knoten und den daraus resultierenden Änderungen der Eigenschaften dieser Knoten, Dynamik *auf* dem Netzwerk statt.

Im Folgenden werden einige Begriffe der *Topologie* und der *Dynamik auf Netzwerken* vorgestellt, sowie mögliche Forschungsthemen, die mit diesen Bereichen in Verbindung stehen.

**TOPOLOGIE** Jeder Graph  $G = (V, E)$  besteht aus einer Menge  $V$  von Knoten (*engl. vertices*) und einer Menge  $E$  von Kanten (*engl. edges*), wobei jede Kante  $e \in E$  zwei Knoten  $u, v$  aus  $V$  verbindet. Die Kanten können ungerichtet oder gerichtet sein, in dieser Arbeit sind sie gerichtet, d. h. jede Kante hat einen Anfangs- und einen Endknoten. Eine topologische Eigenschaft von Netzwerken ist die Gradverteilung der Knoten: Der Grad  $k_{\text{out}}(v)$  eines Knotens  $v \in V$  ist die Häufigkeit, mit der  $v$  als Anfangsknoten einer Kante auftritt, und  $k_{\text{in}}(v)$  zählt, wie oft Knoten  $v$  Endknoten einer Verbindung ist. Die Summe der verschiedenen Elemente in  $k_{\text{in}}$  und  $k_{\text{out}}$  entspricht der Zahl der Nachbarn von  $v$ . Ein Graph heißt vollständig, wenn jeder Knoten mit allen anderen Knoten verknüpft ist. Sind der Anfangs- und Endknoten nicht verschieden, d. h. wenn gilt  $u = v$ , hat der Graph eine

### Schlinge oder Rückkopplung.

Um ein System in die Sprache der Netzwerke mit Kanten und Knoten zu übersetzen, müssen alle Elemente des Systems und ihre Verknüpfungen bekannt sein, damit die Struktur, oder Topologie, definiert werden kann. In den letzten Jahren wurden in den unterschiedlichsten Disziplinen immer mehr Datenbanken über echte Netzwerke angelegt, die nun leicht zugänglich sind (z.B. Zebrafish Model Organism Database [25], Protein Data Bank europe [26] oder Internet Movie Database [27]). Während früher Berechnungen für Netzwerke mit mehreren Millionen Knoten ohne spezielle Hardware unmöglich waren, ermöglichen es die inzwischen sehr leistungsstarken Computer, die Struktur der erfassten Netzwerke zu untersuchen [22]. Zudem erlauben es die nicht mehr so starren Grenzen zwischen Disziplinen, auf Datenbanken verschiedenster Systeme zuzugreifen, und damit generische topologische Eigenschaften komplexer Systeme zu analysieren [23]. Die Untersuchung der Topologie eines Netzwerks kann zu weitreichenden Ergebnissen führen, da die Struktur eines Systems immer auch seine Funktion beeinflusst. In einem sozialen Netzwerk z.B. hängt die Ausbreitung von Information oder Krankheiten von der Topologie ab, und die Struktur eines Hochspannungsnetzwerks beeinflusst die Robustheit und Stabilität der Stromversorgung [22].

**DYNAMIK AUF NETZWERKEN** Wenn nicht nur die Struktur eines komplexen Systems modelliert werden soll, sondern auch die Dynamik auf dem Netzwerk, entspricht jeder Knoten einer Variablen, deren zeitliche Entwicklung von einer Interaktionsfunktion bestimmt wird, die beschreibt, wie der Knoten vom Verhalten der mit ihm verbundenen Knoten abhängt. Diese Funktionen müssen für jedes System spezifisch formuliert werden, wobei die Verknüpfungen zwischen den Knoten beispielsweise verschieden stark sein können, inhibierend oder aktivierend, linear oder nichtlinear. Die genaue Form der Interaktionsfunktionen hängt vom Abstraktionslevel des Modells ab und bestimmt die zeitliche Änderung der Variablen (siehe auch Abschnitt 2.1.3 und Abschnitt 2.2.4). Anhand der Topologie, den Interaktionsfunktionen der Knoten und eines Anfangszustands, kann die zeitliche Entwicklung des Systems bestimmt werden. Die Untersuchung der Dynamik auf dem Netzwerk zeigt, ob es auf einen Gleichgewichtszustand läuft, zyklisches Verhalten oder sogar chaotische Dynamik zeigt.

### 2.1.2 Anwendungsbeispiele für die Beschreibung komplexer Systeme durch Netzwerke

Neben den bereits genannten Beispielen gibt es noch viele weitere Anwendungsgebiete, in denen komplexe Systeme als Netzwerke wissenschaftlich untersucht werden. Im Folgenden werden ein paar der Gebiete näher erläutert:

**WORLD WIDE WEB** Das World Wide Web ist das größte Netzwerk, für das topologische Information zur Verfügung steht [23]. Die Knoten des Netzwerks sind die Dokumente (Webseiten) und die Kanten sind die Hyperlinks, die von einer Seite auf eine andere zeigen. Die Größe des Netzwerks wurde im Jahr 1999 auf mindestens  $8 \cdot 10^8$  Knoten geschätzt [28], doch die kontinuierlichen Veränderungen der Dokumente und Links machen es unmöglich, alle Knoten und Kanten zu katalogisieren. Das wissenschaftliche Interesse am World Wide Web als Netzwerk ist gestiegen, als herausgefunden wurde, dass die Gradverteilung der Webseiten über mehrere Größenordnungen einem Potenzgesetz folgt [28]. Da die Kanten gerichtet sind, gibt es zwei Verteilungen, die der eingehenden und die der wegführenden Kanten. Die Verteilungen  $P_{in}(k)$  und  $P_{out}(k)$  beschreiben die Wahrscheinlichkeit eines Dokuments,  $k$  eingehende bzw. wegführende Hyperlinks zu haben. Das Potenzgesetz, dem die Verteilungen folgen, deutet darauf hin, dass die Wahrscheinlichkeit ein Dokument mit einer sehr großen Zahl an Hyperlinks zu finden, signifikant ist, d. h. es gibt einige stark verknüpfte Webseiten.

**SOZIALE NETZWERKE** Auch verschiedenste Interaktionen zwischen Menschen können in Form von Netzwerken beschrieben und untersucht werden. Dabei repräsentieren die Knoten des Netzwerks einzelne Individuen und die Kanten stellen ihre Wechselwirkung dar, z. B. Kollaborationen von Wissenschaftlern [29], Aufbau von Vertrauen zwischen Bekannten [30] oder die Übertragung von Krankheiten in Form von Epidemien [31]. Untersuchen lässt sich z. B. auch die Evolution von Gruppenbildungen innerhalb verschiedener sozialer Gefüge [32], indem die topologischen Eigenschaften verschiedener Netzwerke anhand von Datenbanken analysiert und verglichen werden.



**ÖKOsysteme** Ökologische Systeme sind hoch komplexe Netzwerke, die aus vielen verschiedenen biologischen Spezies bestehen, die auf verschiedenen Weisen interagieren. Die Wechselwirkungen zwischen den Spezies, die durch die Kanten eines Netzwerks dargestellt werden können, sind z.B. Konkurrenz, Parasitismus oder Räuber-Beute Beziehungen. Netzwerke, die sich auf wenige Spezies und ihre Ernährungsrelationen beschränken, werden Nahrungsnetze (*engl.* food webs) genannt. In Nahrungsnetzen repräsentieren die Knoten die verschiedenen Spezies und die gerichteten Kanten beschreiben den Fluss der Ressourcen, d.h. wer von wem gefressen wird. Das Verständnis der Struktur und der Bildungsmechanismen dieser komplexen Netzwerke ist von großer Bedeutung in der Ökologie [33]. Obwohl viele Netzwerkmodelle stark vereinfacht sind, wurde festgestellt, dass selbst diese einfachen Modelle Charakteristiken zeigen, die auch als generische Eigenschaften detaillierter Nahrungsnetze gelten [34]. Bei der Untersuchung von Nahrungsnetzen können gezielte Fragen nach dem Aussterben bestimmter Spezies oder dem Einfluss räumlicher Migration auf die Netzwerke studiert werden. Neben allgemeinen Analysen der Stabilität von Nahrungsnetzen [35] soll außerdem die Frage geklärt werden, in welchem Zusammenhang Stabilität und Komplexität der Systeme stehen [36, 37]. Dies geschieht durch die Betrachtung sowohl der Topologie, als auch der Dynamik eines Netzwerks.

**METABOLISMUS** Viele hunderte bis tausende chemische Reaktionen, die in der Zelle ablaufen, werden im Ganzen als Stoffwechsel oder Metabolismus bezeichnet. Der Metabolismus dient der Gewinnung chemischer Energie, dem Wachstum der Zelle und dem Auf- und Abbau von Makromolekülen. Metabolische Netzwerke beschreiben die Interaktionen der chemischen Substanzen in der Zelle. Die Knoten entsprechen in diesem Fall Substraten oder Produkten, die an chemischen Reaktionen beteiligt sind, und die Kanten entsprechen den Reaktionen selbst. Ein metabolisches Netzwerk ermöglicht einen genauen Überblick darüber, welche Reaktionen zwischen den verschiedenen Stoffwechselprodukten ablaufen, und hilft das biologische System zu analysieren und seine Dynamik zu untersuchen. Einer der wichtigsten Stoffwechselwege lebender Zellen ist die Glykolyse, die die Umsetzung von Glukose in Ethanol beschreibt [38] und für die Zelle eine bedeutende Quelle frei verfügbarer Energie darstellt. Die Glykolyse der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* ist schon seit vielen

Jahrzehnten im Fokus wissenschaftlicher Studien [38, 39, 40, 41, 42] und die genauen dynamischen Abläufe dieses metabolischen Netzwerks sind u. a. auch für die Produktion von Ethanol im Brauereiwesen und in der Destillierindustrie von großem wirtschaftlichem Interesse [38].

**GENREGULATION** Die Expression vieler Gene wird durch Proteine beeinflusst, die an regulatorischen Sequenzen an der Desoxyribonukleinsäure (*engl.* Deoxyribonucleic acid) (DNA) binden. Da diese Proteine, die auch Transkriptionsfaktoren genannt werden, selbst durch Gene kodiert werden, liegt ein Netzwerk von Genen vor, die sich gegenseitig regulieren [8, 43]. Detaillierte Genregulationsnetzwerke stellen die mRNAs und Proteine als Knoten dar und die Prozesse der Transkription und Translation werden durch die Kanten beschrieben. In abstrakteren Modellen entsprechen die Knoten den Genen und es existieren gerichtete Kanten, wenn ein Gen die Expression eines anderen Gens reguliert. In dieser Arbeit geht es um den Vergleich dieser verschiedenen Abstraktionslevel und ihrer dynamischen Funktionen, die die Regulation beschreiben (siehe Abschnitt 2.2 bis Abschnitt 2.4).

### 2.1.3 *Abwägung des geeigneten Abstraktionslevels*

Die Untersuchung von Netzwerken verschiedenster Disziplinen beschäftigt sich mit ihren topologischen und dynamischen Eigenschaften und oft auch den Zusammenhängen zwischen Struktur und Dynamik. Bei der Modellierung eines Systems muss stets überlegt werden, wie genau es beschrieben werden kann, wie mit verfügbaren und nicht verfügbaren Informationen umgegangen wird, welche Eigenschaften die Modellierung haben sollte und wie das System analysiert werden kann um Vorhersagen treffen zu können [44].

Ein wesentlicher Bestandteil der Forschung in Bezug auf Netzwerke ist deshalb die Suche nach einem geeigneten Abstraktionslevel, das zum einen eine nötige Detailgenauigkeit aufweisen sollte, aber zum anderen nicht zu komplex sein darf. Zu detaillierte Modelle haben zwei wesentliche Nachteile: Die benötigte Rechenzeit zur Untersuchung dynamischer Eigenschaften des Systems ist sehr groß und es ist schwer, die wichtigsten Faktoren für beobachtete dynamische Eigenschaften zu identifizieren. Oft basieren grundlegende Mechanismen eines Systems auf wenigen Annahmen, die durch

zu viele Parameter oder Variablen nicht erkennbar sind. Auf der anderen Seite soll das mathematische Modell jedoch die Realität widerspiegeln, so dass es nicht zu abstrakt sein darf. Infolgedessen muss ein Kompromiss zwischen Detailgenauigkeit und Abstraktion gefunden werden.

Eine Möglichkeit diese Fragestellung anzugehen ist die Reduktion der Netzwerke. Dies geschieht entweder in Form einer topologischen Verkleinerung, indem Knoten zusammengefasst oder eliminiert werden [45, 46], oder die Reduktion betrifft dynamische Eigenschaften des Netzwerks, indem einfachere oder abstraktere Funktionen eingeführt werden [47, 48, 49]. Die grundsätzliche Funktion eines Systems sollte beim Wechsel des Abstraktionslevels jedoch erhalten bleiben, und so stellt sich die Frage, wie der Übergang zwischen Modellen unterschiedlicher Genauigkeit aussieht. In dieser Arbeit geht es um Netzwerke mit verschiedenen Modellierungen der Dynamik im Kontext von Genregulation in der Zelle. Die sehr abstrakte Boolesche Modellierung wird mit einem realistischeren kontinuierlichen Modell in Form von gewöhnlichen Differentialgleichungen verglichen und es sollen Kriterien gefunden werden, wann die Abstraktion auf logische Funktionen die kontinuierliche Dynamik gut widerspiegelt. Im nächsten Abschnitt wird der biologische Hintergrund von Genregulationsnetzwerken erläutert, bevor die beiden Modellierungsformen, Boolesch und kontinuierlich, näher vorgestellt werden.

## 2.2 BIOLOGISCHER HINTERGRUND

Genregulationsnetzwerke sind Bestandteil jeder lebenden Zelle und beschreiben die Interaktionen verschiedener Makromoleküle, die den Ablauf der Genexpression regulieren [43], also jenen Prozess, durch den genetische Information in Proteine umgewandelt wird [8]. Die wichtigsten Schritte dabei sind die *Transkription* der Desoxyribonukleinsäure (*engl.* Deoxyribonucleic acid) (DNA) in Boten-Ribonukleinsäure (*engl.* messenger ribonucleic acid) (mRNA) und die *Translation* der mRNA in Aminosäure-Sequenzen, aus denen Proteine bestehen.

Im folgenden Abschnitt 2.2.1 wird die Zelle als Umfeld der Genregulationsnetzwerke vorgestellt (vgl. [8, 50]), bevor in Abschnitt 2.2.2 näher auf die genannten beteiligten Makromoleküle, DNA, mRNA und Proteine, und die Prozesse der Transkription und Translation eingegangen wird (vgl. [51, 52]). In Abschnitt 2.2.3 und Abschnitt 2.2.4 werden der biologische Hintergrund und Möglichkeiten der mathematischen Beschreibung von Genregulationsnetzwerken vorgestellt.

## 2.2.1 Zelle

Eine Zelle ist die kleinste lebende Einheit aller Organismen und stellt ein strukturell abgrenzbares und selbsterhaltendes System dar. Sie ist in der Lage, Nährstoffe aufzunehmen, deren Energie durch Stoffwechsel für sich nutzbar zu machen, und sie hat die Fähigkeit, sich während des Zellzyklus zu teilen. In der Biologie werden die verschiedenen Lebensformen in *Prokaryoten* (meist Einzeller, z. B. Bakterien) und *Eukaryoten* (Einzeller oder Mehrzeller, z. B. Pflanzen oder Tiere) unterteilt [8]. Die Zellen der Prokaryoten haben im Gegensatz zu eukaryotischen Zellen eine einfachere innere Organisation und keinen Zellkern. Eukaryotische Zellen sind zudem mit einer ungefähren Länge von 10 – 30  $\mu\text{m}$  wesentlich größer als prokaryotische Zellen, die in der Regel nur 1 – 5  $\mu\text{m}$  lang sind [50]. Um die Funktion der Zelle über so große Abstände zu gewährleisten, liegt bei Eukaryoten ein höherer Organisationsgrad in Form von Zellorganellen vor, die verschiedene Aufgaben ausüben, und durch Transportmechanismen verbunden sind. Ein wesentlicher Unterschied zu prokaryotischen Zellen ist zudem die Existenz eines Zellkerns mit einer Kernhülle.

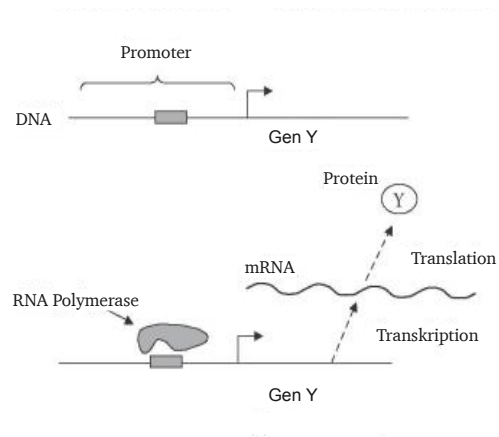


Abbildung 1: Die wichtigsten Schritte der Genregulation sind die Transkription der DNA in mRNA und die Translation der mRNA in Proteine [43]

Jede Zelle, ob prokaryotisch oder eukaryotisch, wird durch eine Membran von der Umgebung abgegrenzt. Zudem enthalten alle Zellen DNA, in der Erbinformation über lange Zeit gespeichert ist, Ribonukleinsäure (*engl.* ribonucleic acid) (RNA), ebenfalls genetisches Material, das u. a. zum Transport der Information und zum Aufbau von Proteinen notwendig ist, und Proteine, die die meisten Reaktionen in der Zelle katalysieren und auch Strukturen in der Zelle bilden.

### 2.2.2 Genexpression

Die folgenden Grundlagen der Genexpression beziehen sich auf Eukaryoten und basieren auf [51, 52], können aber in ähnlicher Weise jedem Buch zu Zellbiologie oder Genetik entnommen werden.

Die genetische Information ist in einem Molekül namens DNA gespeichert, das als Doppelstrang in der Zelle vorliegt und in Form von Chromosomen angeordnet ist. Ein einzelner Strang der DNA besteht aus einem Zuckerphosphat-Rückgrat, wobei jeweils an ein Zuckerphosphat eine von vier verschiedenen Basen gebunden ist, so dass ein sogenanntes Nukleotid gebildet wird. Die vier Basen sind Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T). Zwei derart aufgebaute DNA Stränge sind in anti-paralleler Richtung aneinander gebunden und bilden damit einen Doppelstrang, der wie eine Helix gewunden ist. In der Doppelhelixstruktur befinden sich die Zucker-

DNA

phosphate auf der Außenseite und die Basen sind auf der Innenseite zusammengesteckt wie Stufen einer Leiter. Dabei paart Adenin mit Thymin und Guanin mit Cytosin, jeweils durch die Bildung von Wasserstoffbrücken (zwei für A-T und drei für G-C, so dass diese Bindung stärker ist). Die Information der DNA kann entweder während der Replikation der DNA kopiert werden, oder sie wird genutzt um Proteine zu synthetisieren. Bei der Umwandlung der genetischen Information der DNA, die sich im Zellkern einer eukaryotischen Zelle befindet, in Proteine, die im Cytoplasma synthetisiert werden, tritt als Zwischenzustand eine weitere Nukleinsäure auf, die Boten-Ribonukleinsäure (*engl.* messenger ribonucleic acid) (mRNA).

#### Transkription

mRNA ist eine spezielle Form der RNA, die aus der DNA durch Transkription produziert wird. Die Transkription ist in drei Schritte unterteilt: Initiation, Elongation und Termination. Während der *Initiation* bindet die RNA-Polymerase (RNAP) an speziellen Bindungsstellen der DNA, den sogenannten Promotern (siehe Abbildung 1). Durch diese Bindung wird die Geschwindigkeit der Transkription und damit der gesamten Genexpression bestimmt und sie kann durch andere Enzyme beeinflusst werden (siehe Abschnitt 2.2.3). Während des nächsten Schritts, der *Elongation*, werden die Stränge der DNA aufgetrennt, damit diese ausgelesen werden kann, und danach wieder als Doppelstrang gebunden. Die Richtung der Transkription durch RNAP wird von der Orientierung des Promoters bestimmt. Im dritten Schritt, der *Termination*, trifft das Enzym RNAP auf ein Signal auf der DNA, durch das die Transkription beendet wird. Ein Abschnitt auf der DNA, der alle Informationen zur Herstellung einer RNA enthält, wird *Gen* genannt.

#### mRNA

Nach der Transkription liegt die RNA vor, die der DNA sehr ähnlich und ebenfalls Träger der genetischen Information ist. Die RNA ist im Gegensatz zur DNA weniger stabil, besteht aus nur einem einzelnen Strang und auch der Aufbau unterscheidet sich von dem der DNA: Das Grundgerüst der RNA enthält in den Nukleotiden den Zucker Ribose statt Desoxyribose und eine der vier Basen, Thymin (T), wird in der RNA durch Uracil (U) ersetzt. Außerdem hat das Gerüst der RNA eine zusätzliche OH-Gruppe, die sie flexibler macht und ihr erlaubt, feinere dreidimensionale Strukturen anzunehmen. Es gibt verschiedene Formen der RNA, die verschiedene Funktion haben können, wie die Katalyse von Reaktionen oder das Auftrennen und Aneinanderfügen von Polymeren. Bei der Umwandlung der DNA in Proteine spielt vor allem die Boten-Ribonukleinsäure (*engl.*

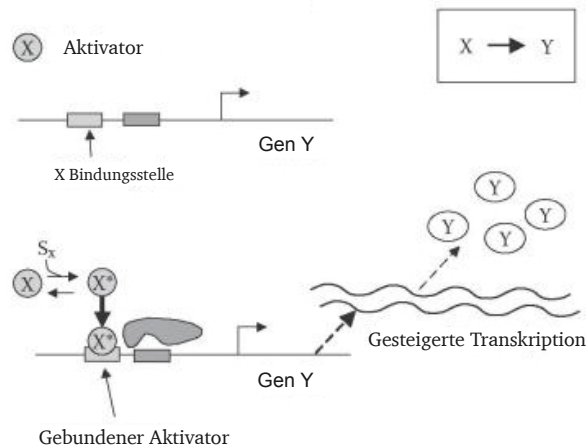


Abbildung 2: Wirkungsweise eines Aktivators [43]

messenger ribonucleic acid) (mRNA) eine wichtige Rolle, da diese die genetische Information aus dem Zellkern hinaus transportieren kann.

Nachdem die mRNA aus der DNA generiert wurde, kann diese den Zellkern verlassen. Während der anschließenden Translation wird die Information genutzt, die auf der mRNA gespeichert ist, um außerhalb des Zellkerns Proteine zu synthetisieren. Dies geschieht im Zytoplasma, der Grundsubstanz der Zelle, an sogenannten Ribosomen, die selbst aus Proteinen und RNA bestehen. Die genetische Information ist in Form von Basen-Triplets kodiert, d.h. jeweils drei Basen bilden zusammen ein sogenanntes Kodon, das bei der Translation in eine Aminosäure übersetzt wird. Durch eine weitere Form der RNA, die Transfer-Ribonukleinsäure (tRNA) wird für jedes mRNA-Triplet die entsprechende Aminosäure bereitgestellt und kovalent an die vorhergehenden gebunden, so dass eine wachsende Kette von Aminosäuren entsteht. Um aus vier Basen ein Triplet zu bilden, gibt es  $4^3 = 64$  Möglichkeiten, doch in der Natur kommen nur 20 verschiedene Aminosäuren vor. Das liegt zum einen an Mehrfachkodierung, d.h. dass mehrere Triplets zur gleichen Aminosäure gehören, und zum anderen werden drei Kombinationen als Stopkodons benötigt. Diese Triplets signalisieren das Ende des auszulesenden Strangs. Die Übersetzung der mRNA in Proteine hat eine Geschwindigkeit von 6 bis 22 Kodons pro Sekunde und jede mRNA wird 1 bis 40 mal übersetzt bevor sie zerfällt.

*Translation*

Die Proteine, die während der Translation entstehen, unterliegen

*Proteine*

danach typischerweise weiteren Modifikationen, damit sie verschiedenste Rollen in der Zelle übernehmen können: Proteine katalysieren beispielsweise als Enzyme verschiedenste Reaktionen oder sie wirken bei Transportprozessen mit. Die jeweilige Funktion wird u. a. durch ihre dreidimensional gefaltete Form bestimmt. Diese kann durch Interaktionen mit anderen Molekülen modifiziert werden kann, um das Protein beispielsweise für spezielle Prozesse zu aktivieren oder deaktivieren.

### 2.2.3 Genregulationsnetzwerke

*Transkriptions-  
faktoren*

Die Prozesse der Transkription und Translation verschiedener Gene, d.h. verschiedener Abschnitte der DNA, laufen nicht unabhängig voneinander ab. Bestimmte Proteine, die Transkriptionsfaktoren genannt werden, können beeinflussen, ob und wie die RNA-Polymerase (RNAP) während der Initiation der Transkription an einem Promoter binden kann. Die Transkriptionsrate wird somit bestimmt durch die An- oder Abwesenheit bestimmter Proteine, die als Aktivatoren die Transkription eines Gens katalysieren, oder als Inhibitoren die Genexpression hemmen. Ein Aktivator bildet durch seine Bindung an einer Bindungsstelle einen Komplex mit dem Promoter, wodurch die Transkription schneller ablaufen kann, als nur durch den Promoter allein. Die Transkriptionsrate wird damit erhöht (siehe Abbildung 2). Ein Inhibitor verhindert dagegen durch seine Bindung am Promoter, dass die Transkription stattfindet, und hemmt dadurch die Expression des Gens (siehe Abbildung 3). Diese Möglichkeit der Regulierung stellt einen wichtigen Mechanismus der Genregulation dar.

Da Transkriptionsfaktoren Proteine sind, die selbst durch Gene kodiert werden, regulieren verschiedene Gene gegenseitig ihre Expression (siehe Abbildung 4). Es entsteht also ein komplexes System verschiedener Makromoleküle oder Gene, die miteinander interagieren und sich gegenseitig beeinflussen. Ein solches System lässt sich als Netzwerk beschreiben, bei dem die verschiedenen Gene, mRNAs oder Proteine die Knoten darstellen, und die Kanten die Prozesse der Transkription und Translation widerspiegeln, als sogenanntes *Genregulationsnetzwerk*.



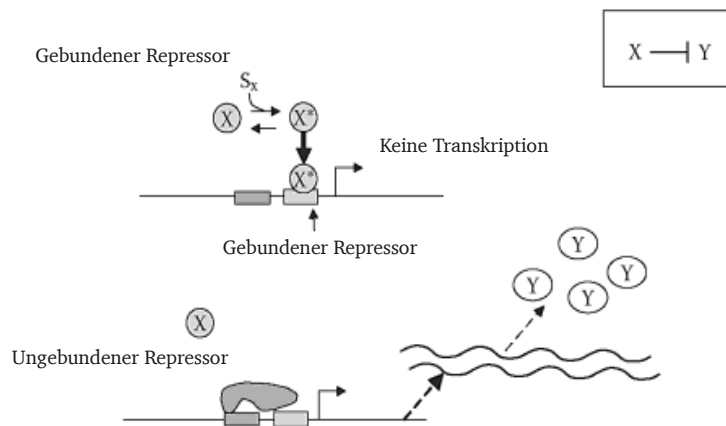


Abbildung 3: Wirkungsweise eines Repressors [43]

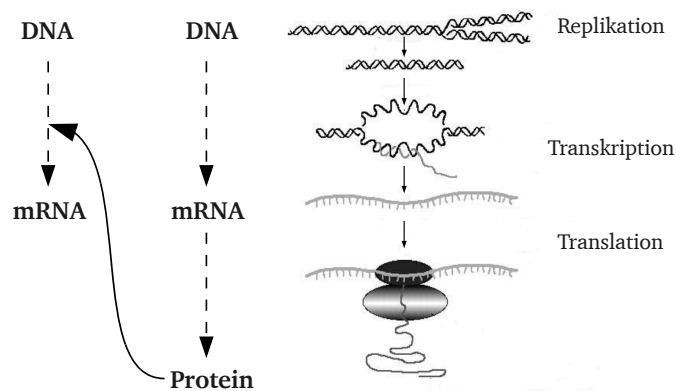


Abbildung 4: Genregulation: Ein Protein wirkt als Transkriptionsfaktor auf die Transkription eines anderen Gens und kann damit dessen Expression beeinflussen (nach [8]).

2.2.4 *Mathematische Modelle der Genregulation*

Kurz nachdem 1961 das erste Repressor-Protein von François Jacob und Jacques Lucien Monod [53] entdeckt wurde, begann die theoretische Arbeit in Bezug auf Genregulationsnetzwerke [54]. Um Genregulationsnetzwerke zu modellieren und in Form von mathematischen Gleichungen zu beschreiben, können verschiedene Ansätze gewählt werden, die sich in ihrer Detailgenauigkeit und Komplexität unterscheiden. Das Abstraktionsniveau eines Modells bestimmt zum einen die Anzahl der Knoten und Kanten, zum anderen die Form der Regulationsfunktionen. Als Knoten können die einzelnen Einheiten der verschiedenen Proteine und mRNAs auftreten, oder es kann angenommen werden, dass so viele einzelne Proteine im System vorhanden sind, dass über ihr Verhalten gemittelt werden kann. In diesem Fall werden statt einzelner Moleküle die Konzentrationen der mRNAs und Proteine beschrieben, die durch Transkription und Translation verbunden sind. Noch weiter vereinfacht kann ein Genregulationsnetzwerk auch nur anhand der Gene dargestellt werden, die sich gegenseitig regulieren.

Auch die zugehörigen dynamischen Gleichungen hängen stark vom jeweiligen Wissen über das System ab und basieren daher auf einer Reihe von Annahmen, empirischen Erfahrungen oder theoretischen Überlegungen. Die Dynamik kann z. B. deterministisch oder stochastisch modelliert werden, und auch die Zeit- und Konzentrationsskalen können sich unterscheiden und z. B. kontinuierlich oder diskret sein. Da die unterschiedlichen Arten der Modellierung auf verschiedenen Annahmen und Vereinfachungen basieren, variieren auch die Möglichkeiten der Berechnungen und Analysen, die durchgeführt werden können.

Das Ergebnis jedes Ansatzes zur Beschreibung von Genregulationsnetzwerken ist ein spezifisches Modell, dessen Dynamik stark vom jeweiligen Abstraktionslevel abhängt. Verschiedene Arten der Modellierung können damit verschiedene dynamische Eigenschaften eines Systems vorhersagen. In dieser Arbeit soll die Dynamik von kontinuierlichen Modellen in Form von gewöhnlichen Differentialgleichungen mit abstrakteren Booleschen Netzwerken verglichen werden.

Mit der quantitativen Beschreibung des Verhaltens der Zelle, der Genregulationsnetzwerke und mit den zugrundeliegenden dynamischen Prozessen beschäftigt sich das Feld der Systembiologie, das in den letzten Jahren gewachsen ist [8]. Die hier betrachteten quantitativen Modelle beinhalten Ratengleichungen für die Konzentrationen der beteiligten Makromoleküle, d.h. der mRNAs und Proteine. Sowohl die Konzentration der beteiligten Makromoleküle als auch die Zeit werden kontinuierlich modelliert, und die Dynamik des Systems wird in Form von deterministischen gewöhnlichen Differentialgleichungen (ODEs von *engl.* ordinary differential equations) beschrieben. Die Untersuchung des Systems mit Hilfe numerischer Simulationen oder linearer Stabilitätsanalyse kann detaillierte Informationen über Transkription, Translation und damit den Zeitverlauf der Genexpression liefern. Die dynamischen Gleichungen und die Methoden zur Stabilitätsanalyse werden in Abschnitt 2.3 vorgestellt. Um kinetische Parameter des Modells zu bestimmen oder für einen Vergleich der theoretischen Modelle mit biologischen Daten können in vivo Experimente verwendet werden [9].

*Kontinuierliche  
Modelle*

Boolesche Netzwerke sind dagegen ein sehr abstraktes Modell, das 1969 durch Stuart Kauffman [10] für die Modellierung von Genregulationsnetzwerken eingeführt wurde. Diese qualitative Beschreibung fasst die beteiligten Makromoleküle DNA, mRNA und Proteine als Gene zusammen, die sich gegenseitig regulieren. Jedes Gen hat zwei mögliche Zustände: Es kann an (1) oder aus (0) sein [10, 11], d.h. die Konzentrationswerte sind diskret, und auch die Zeit wird in Form von diskreten Schritten modelliert. Der Zustand der einzelnen Knoten wird zu jedem Zeitschritt anhand spezifischer Funktionen berechnet, die von den Zuständen der Eingangsknoten abhängen. Auf die Funktionen und das dynamische System wird in Abschnitt 2.4 näher eingegangen. Die Aktualisierung der Zustände erfolgt in den einfachsten Modellen für alle Knoten synchron.

*Boolesche Modelle*

Gerade weil Boolesche Modelle viele Details der echten chemischen Interaktionen vernachlässigen, kann durch sie biologisches Wissen über Genregulationsnetzwerke leicht implementiert werden. Sie erlauben es, Hypothesen über das dynamische Verhalten der Netzwerke zu testen und können damit zu neuen biologischen Hypothesen führen [55]. Boolesche Netzwerke reflektieren generelle Eigenschaften von Genregulationsnetzwerken in lebenden Zellen [10, 11] und sind gerade dann sinnvoll, wenn sehr große

Netzwerke betrachtet werden [56], da sie die große Komplexität der biologischen Vorgänge auf ein Problem reduzieren, dessen logische Struktur anschaulich zu verstehen und gut zu handhaben ist. Als einfachste Realisierung großer komplexer Netzwerke wurden von den ungarischen Mathematikern Paul Erdős und Alfred Rényi [57] Zufallsnetze eingeführt. Diese spiegeln generische Eigenschaften von Genregulationsnetzwerken wieder und es können z.B. die Evolution von Netzwerken [58, 59] oder die Auswirkung verschiedener Funktions- oder Gradverteilungen auf die Dynamik untersucht werden [60, 61]. Dadurch erlauben Boolesche Modelle der Genregulation die Untersuchung genereller Eigenschaften ganzer Klassen von Systemen [10]. Doch auch für Netzwerke, die auf biologischen Erkenntnissen und Daten basieren, wurden Boolesche Modelle in den letzten Jahren immer mehr respektiert, da sie trotz ihres großen Abstraktionsgrades experimentell gefundene Zustände reproduzieren können. Die Genexpressionslevel der einzelnen Gene und ihre Verknüpfungen können anhand von Microarray Daten gewonnen [44] und durch Reverse-Engineering-Algorithmen [62, 63] in Boolesche Modelle übersetzt werden. Da dabei sehr steile Protein-Konzentrationsänderungen beobachtet werden konnten, unterstützen diese Daten die Annahme, dass regulatorische Elemente eine binäre Charakteristik zeigen [64]. Beispiele für Regulationsnetzwerke, die mit Booleschen Netzwerken erfolgreich modelliert wurden, sind der Zellzyklus von Hefe [5, 48] und von Säugetieren [65], die Zellteilung der *Drosophila* [66], oder das regulatorische Netzwerk des Metabolismus im Bakterium *Escherichia coli* [67].

Aufgrund der einfachen Modellierung und Transparenz der Booleschen Beschreibung lohnt es sich zu wissen, unter welchen Bedingungen Boolesche Modelle die wichtigsten dynamischen Eigenschaften eines System erfassen, dessen Vorgänge als kontinuierlich angenommen werden. Im Gegensatz zu kontinuierlichen Modellen sind Boolesche Netzwerke weniger detailgenau, wodurch jedoch auch die Menge der für die Modellierung benötigten Daten geringer ist (siehe auch Abbildung 5). Aufgrund der einfachen logischen dynamischen Gleichungen kann mit Booleschen Modellen selbst für sehr große Netzwerke die resultierende Dynamik schnell analysiert werden. Sie können im Gegensatz zu quantitativen, kontinuierlichen Modellen keine Aussagen über den exakten Zeitverlauf der Dynamik treffen, es können jedoch qualitative dynamische Eigenschaften wiedergegeben werden.

Boolesche und kontinuierliche Dynamik wurde schon für verschiedene Systeme verglichen [16, 17, 18, 68], doch es scheint keine einfachen Kriterien zu geben, wann die vorhergesagte Dynamik der Booleschen und der kontinuierlichen Modelle übereinstimmt. Aus diesem Grund soll im Rahmen dieser Arbeit für verschiedene abstrakte Genregulationsnetzwerke die Dynamik der Booleschen Modelle mit dem quantitativen Ansatz der gewöhnlichen Differentialgleichungen verglichen werden, der mit kontinuierlichen Konzentrationen der beteiligten Makromoleküle eine realistischere Beschreibung der Prozesse in der Zelle darstellt.

In Abschnitt 2.3 und Abschnitt 2.4 werden die beiden Modellierungsarten, die kontinuierlichen Differentialgleichungen und Booleschen Netzwerke, näher erläutert und die genauen dynamischen Gleichungen vorgestellt. Anschließend werden diese Modelle auf abstrakte Genregulationsnetzwerke angewandt und die resultierende Dynamik verglichen, zum einen für Netzwerke mit gleichen topologischen Eigenschaften (Kapitel 3) und zum anderen für Netzwerke mit gleichen dynamischen Eigenschaften (Kapitel 4).

Neben Booleschen Modellen mit paralleler Aktualisierung und kontinuierlichen Modellen in Form von gewöhnlichen Differentialgleichungen für mRNAs und Proteine gibt es in der Literatur weitere Ansätze, um Genregulationsnetzwerke zu beschreiben. Im folgenden Abschnitt sollen die beiden Modellierungsarten anhand verschiedener Kriterien mit anderen Ansätzen verglichen werden, um so die betrachteten Modelle einzuordnen. Ausführliche Beschreibungen der weiteren genannten Darstellungen sind z. B. in den Review-Artikeln [2, 13, 14, 15] und den darin enthaltenen Referenzen zu finden.

#### *Einordnung der betrachteten Modellierungen der Genregulation*

Die im Folgenden dargestellten Modelle können z. B. in qualitative und quantitative Ansätze unterteilt werden. Qualitative Beschreibungen sind meist logische Modelle, die Aussagen über die dynamischen Eigenschaften eines Systems machen können, auch wenn explizite Daten fehlen [69]. Bei quantitativen Modellen kann unterschieden werden zwischen kontinuierlichen Modellen, die die Konzentrationen der beteiligten chemischen Einheiten betrachten, und Modellen, die einzelne Moleküle modellieren [15].

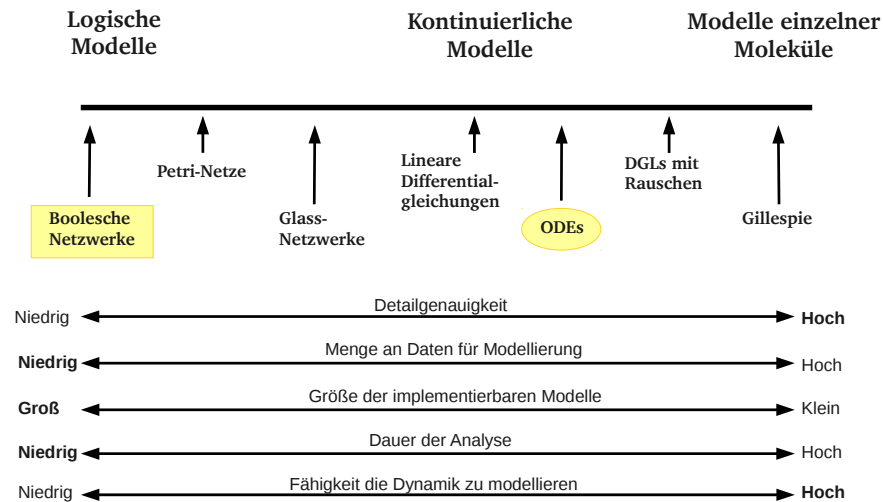


Abbildung 5: Verschiedene mathematische Modelle für Genregulationsnetzwerke und ihre Eigenschaften [15]

**LOGISCHE MODELLE** Boolesche Modelle gehören zu den diskreten, logischen Modellen. Diese stellen die einfachste Methode dar, Genregulationsnetzwerke zu beschreiben, und bauen auf rein qualitativem Wissen auf [15]. Neben Booleschen Modellen mit zwei möglichen Zuständen pro Knoten gibt es auch diskrete Modelle, in denen die Knoten mehrere Zustände annehmen können [70], um z. B. unterschiedlich hohe Expressionslevel darzustellen.

Diskrete Modelle können nicht nur in der Anzahl der Zustände variieren, sondern auch in der Implementierung der Aktualisierung der Knoten. Neben der parallelen Aktualisierung, die mit den wenigsten Annahmen über das System auskommt, können die Knoten auch in einer bestimmten deterministischen Reihenfolge [71] oder vollkommen zufällig aktualisiert werden, um damit zeitliche Fluktuationen zu modellieren [72].

Eine weitere Möglichkeit Stochastizität in logische Modelle zu integrieren, bieten probabilistische Boolesche Netzwerke [73]. Diese realisieren Unsicherheiten des Systems, indem für jeden Knoten mehrere mögliche Funktionen mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auftreten. Zu jedem Zeitschritt wird anhand einer gegebenen Wahrscheinlichkeitsverteilung eine der Funktionen ausgewählt, so dass

von einem Zustand des Netzwerks aus mehrere Trajektorien möglich sind. Die Netzwerkzustände bilden damit eine Markov-Kette.

Eine intuitive Repräsentation biochemischer Netzwerke stellen Petri-Netze dar [69], die in Form einer formalen graphischen Repräsentation ebenfalls nicht-deterministische Zustandsübergänge modellieren. Petri-Netze wurden 1962 von Carl Adam Petri eingeführt und in den letzten Jahren auch auf Genregulationsnetzwerke angewandt (z. B. [74]). Die bipartiten Graphen haben zwei Arten von Knoten, Orte (*engl.* places) und Übergänge (*engl.* transitions) [44], die durch Kanten verbunden sind. Dabei führen die Kanten jeweils von einem Ort zu einem Übergang oder umgekehrt. Die Orte sind zudem mit sogenannten Marken (*engl.* tokens) besetzt. Die Dynamik des Systems ergibt sich aus dem Umverteilen dieser Marken durch das Schalten der Übergänge, die den Reaktionen des Systems entsprechen. Der aktuelle Zustand des Systems entspricht dann gerade der Verteilung der Marken auf die Plätze. In einer Weiterentwicklung dieses Modells, den hybriden Petri-Netzen, können Systeme auch quantitativ betrachtet werden, indem die Anzahl der Marken die Konzentration der jeweiligen Moleküle darstellt [75].

Eine weitere Brücke zwischen qualitativen diskreten und quantitativen kontinuierlichen Modellen stellen stückweise lineare Differentialgleichungen dar, die eine Variante der Booleschen Modelle sind und von Leon Glass eingeführt wurden [76, 77]. In diesen Modellen wird jeder Knoten durch eine kontinuierliche Variable dargestellt, die der Konzentration der jeweiligen Komponente entspricht, und durch eine diskrete Variable, die ihre Aktivität darstellt. Damit kann das diskrete Modell um Zwischenzustände der Expressionslevel erweitert werden.

**KONTINUIERLICHE MODELLE** Modelle mit gewöhnlichen Differentialgleichungen gehören zu den quantitativen, kontinuierlichen Modellen. Quantitative Modelle sollen das System detailliert beschreiben und quantitative Ergebnisse produzieren. Dazu werden Datensätze für die Werte der Parameter benötigt, die jedoch zum Teil schwer durch Experimente bestimmt werden können. Selbst für kleine Systeme können Ergebnisse über dynamische Eigenschaften des Netzwerks oft nur numerisch gewonnen werden, da die Gleichungen des Systems in der Regel nichtlinear und nicht analytisch lösbar sind.

Neben gewöhnlichen Differentialgleichungen können auch partielle oder stochastische Differentialgleichungen genutzt werden, um räumliche oder stochastische Effekte einzubeziehen [44]. Außerdem kann auch das Abstraktionslevel der betrachteten Knoten variieren: Anstatt für jedes Gen die Konzentrationen der jeweiligen mRNA und Proteine zu betrachten, kann auch nur eine Gleichung pro Gen eingeführt werden, mit einer entsprechenden Zeitverzögerung für den Prozess der Translation [16, 17]. Neben den nichtlinearen Funktionen, wie sie in dieser Arbeit für die Regulation der Transkription vorgestellt werden, können Genregulationsnetzwerke auch mit linearen Modellen beschrieben werden [78] oder die verwendeten Funktionen können als sehr steil angenommen werden, so dass sie einen Übergang zu logischen Funktionen darstellen.

**MODELLE MIT EINZELNEN MOLEKÜLEN** Wenn die Anzahl der Moleküle in einem System sehr klein ist oder sie nicht gleichmäßig verteilt im System vorliegen, können signifikante stochastische Effekte auftreten. Diese Effekte werden in Modellen berücksichtigt, die einzelne Moleküle der verschiedenen Komponenten betrachten. Durch einen solchen Ansatz wird ein System ebenfalls quantitativ beschrieben, doch die Variablen sind diskret und die Dynamik stochastisch. Die chemischen Reaktionen in einer Ein-Molekül-Auflösung können mit numerischen Monte-Carlo-Simulationen modelliert werden. Eine populäre Version dieser Simulationen wurde in den späten 1970ern von Daniel Gillespie [79] eingeführt. Da jede chemische Reaktion als Kollision von Molekülen aufgefasst wird, verwendet der Gillespie-Algorithmus Reaktionswahrscheinlichkeiten, die von der Anzahl, dem Volumen, den Radien und den Geschwindigkeitsverteilungen der Moleküle abhängen. Eine Reaktion findet genau dann statt, wenn der Abstand zweier Moleküle, die miteinander reagieren können, gerade nur noch die Summe ihrer Radien beträgt [80]. Das Grundprinzip des Algorithmus ist die Generierung zweier Zufallszahlen aus einer aus den Reaktionskonstanten berechneten Verteilung. Diese Zufallszahlen geben an, wann eine nächste Reaktion stattfindet, und welche der Reaktionen es ist. Ein System aus chemischen Reaktionen kann damit als stochastischer Prozess beschrieben werden und durch den Gillespie-Algorithmus können die Vorhersagen einer stochastischen Mastergleichung des Systems simuliert werden.



Neben dieser vollständig diskreten Beschreibung von Genregulationsnetzwerken existieren auch kontinuierliche Modelle, die stochastische Effekte beinhalten und auf der Mastergleichung und der daraus berechneten Langevin-Gleichung basieren [81]. In diesen Modellen werden Differentialgleichungen mit Rauschtermen betrachtet, wodurch für kleine Systeme das dynamische Verhalten trotz der stochastischen Effekte mit analytischen Methoden bestimmt werden kann.

**ÜBERGANG ZWISCHEN MODELLEN** Durch den Vergleich der verschiedenen Ansätze wird deutlich, dass sich einige Modelle ineinander überführen lassen, z. B. durch genügend steile kontinuierliche Funktionen, die sich einer Booleschen Stufenfunktion annähern, oder durch den Wechsel von Anzahlen auf Konzentrationen, indem genügend viele Teilchen angenommen werden. Trotz dieser fließenden Übergänge treten beim Vergleich der Modelle qualitative dynamische Unterschiede auf. Dies wurde bereits sowohl bei der Betrachtung des Übergangs von stochastischen zu kontinuierlichen Systemen [81, 82], als auch beim Vergleich von kontinuierlichen und Booleschen Systemen festgestellt [16, 17, 18].

Es stellt sich die Frage, auf welche Weise und wie stark die getroffenen Annahmen die Dynamik des Systems beeinflussen, zu welchen Unterschieden es in der Dynamik der verschiedenen Modelle kommt und welche Kriterien eine gute Übereinstimmung garantieren. In den folgenden Abschnitten werden die Details und Analysemethoden der kontinuierlichen und Booleschen Modellierung vorgestellt, bevor in Kapitel 3 die Dynamik von abstrakten Netzwerkmodulen beider Modellierungen verglichen wird.

## 2.3 KONTINUIERLICHE MODELLIERUNG

## 2.3.1 Differentialgleichungen

Für das kontinuierliche Modell sollen die biologischen Prozesse, die in Abschnitt 2.2.2 und Abschnitt 2.2.3 beschrieben wurden, in Form von Differentialgleichungen für die Konzentrationen der mRNAs und Proteine der einzelnen Gene mathematisch ausgedrückt werden. Die Änderung dieser Konzentrationen hängt von den Abläufen während der Genexpression ab, also von Transkription und Translation: Die Produktion der mRNA, die durch Transkriptionsfaktoren reguliert wird, kann in den Differentialgleichungen mit Hilfe von Regulationsfunktionen  $F$  beschrieben werden [83]. Auf diese Funktionen  $F$ , die von den Konzentrationen der Proteine, die als Transkriptionsfaktoren wirken, abhängen, wird im Laufe dieses Kapitels näher eingegangen. Die Produktionsrate der Proteine, die durch die Übersetzung der mRNA-Moleküle während der Translation entstehen, wird proportional zur mRNA-Konzentration angenommen mit einem Proportionalitätsfaktor  $\omega$  [8]. Außerdem nehmen die Konzentrationen der Proteine und mRNAs aufgrund von Zellwachstum oder Zerfall der Moleküle ab. Die Rate dieser Prozesse sei ebenfalls proportional zu den jeweiligen Konzentrationen [78], mit Proportionalitätskonstanten  $\gamma$  und  $\delta$ . Für einige Systeme lohnt es sich zudem, die verschiedenen Zeitskalen der Dynamik zu betrachten, z.B. in *E. coli* zerfällt die mRNA in wenigen Minuten, während die Proteine in diesen Zellen für den Zerfall mehrere Stunden benötigen [3]. Für solche Systeme kann angenommen werden, dass die Konzentrationen der mRNAs sehr schnell in ihren Gleichgewichtszustand übergehen, so dass pro Gen nur ein Freiheitsgrad bleibt, der der jeweiligen Protein-Konzentration entspricht. Für die Untersuchung dieses Effektes wird in den Differentialgleichungen ein Parameter  $\epsilon$  eingeführt, der das Zeitskalenverhältnis der Dynamiken von mRNAs und Proteinen beschreibt.

Es sei nun  $R_i$  die Konzentration der mRNA, die durch Gen  $i$  produziert wird, und  $P_i$  die entsprechende Protein-Konzentration für  $i = 1, 2, 3, \dots, N$ , wobei  $N$  die Anzahl der beteiligten Gene des

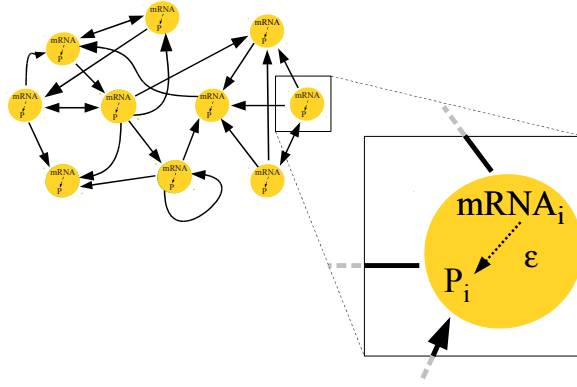


Abbildung 6: Ein Beispiel eines Netzwerks aus zehn Knoten. Im kontinuierlichen Modell wird für jedes Gen sowohl die Dynamik der Proteine als auch die der mRNA modelliert. Das Verhältnis der Zeitskalen zwischen mRNA- und Protein-Dynamik kann durch den Parameter  $\epsilon$  bestimmt werden.

betrachteten Systems ist. Die Differentialgleichungen lauten dann (vgl. [8, 83, 84])

$$\begin{aligned}\dot{R}_i &= \epsilon(F_i(P_1, \dots, P_N) - \gamma_i R_i), \\ \dot{P}_i &= \omega_i R_i - \delta_i P_i.\end{aligned}\tag{1}$$

### 2.3.2 Regulationsfunktionen

Die Regulationsfunktion  $F$  einer mRNA hängt von den Konzentrationen der Proteine ab, die als Transkriptionsfaktoren wirken. Wenn das Protein ein Aktivator ist, wird die Regulation üblicherweise durch eine monoton steigende sigmoidale Funktion  $F^+$  modelliert, wenn das Protein ein Inhibitor ist, durch eine abnehmende Funktion  $F^-$ . Die regulatorischen Prozesse können mathematisch mit Hilfe der Standardregeln der Reaktionskinetik beschrieben werden (vgl. z. B. [3, 43]). Sie basieren auf Massenwirkungsgesetzen, wonach die Rate eines elementaren chemischen Prozesses proportional zum Produkt der Konzentrationen der in der Reaktion involvierten molekularen Spezies ist. Die Regulation während der Transkription kann durch eine einfache Reaktion dargestellt werden, die von einem Enzym  $E$  katalysiert wird:



E stellt in diesem Fall den Promoter des Gens dar, P ist das Protein, das als Transkriptionsfaktor wirkt, und R ist die mRNA, die aus der Transkription hervorgeht. Die Reaktionsgleichungen (2) drücken aus, dass ein Protein, das als Transkriptionsfaktor wirkt, an einen Promoter der DNA bindet, wodurch ein Komplex aus Promoter und Transkriptionsfaktor gebildet wird. Dieser Komplex wird schließlich umgewandelt in die mRNA, wobei Promoter und Transkriptionsfaktor jedoch in der Zelle bestehen bleiben. Die Gleichung, die die Dynamik des Komplexes [EP] aus Promoter E und Protein P beschreibt, ist dann

$$\frac{d[EP]}{dt} = k_1 \cdot P \cdot E - (k_{-1} + k_{tr}) \cdot [EP],$$

wobei E, P und [EP] die Konzentrationen der jeweiligen Spezies darstellen. Wenn angenommen wird, dass der Transkriptionsfaktor sehr schnell an den Promoter bindet, läuft der Komplex [EP] sehr viel schneller auf seinen Gleichgewichtszustand  $d[EP]/dt = 0$  als die anderen Spezies. Zudem ändert sich die Gesamtzahl  $E_T$  der Promoter eines Gens während des Transkriptionsprozesses nicht, so dass gilt  $E + [EP] = E_T$ . Damit kann für die Konzentration des Komplexes abhängig von der Anzahl der Transkriptionsfaktoren folgende Gleichung aufgestellt werden:

$$[EP] = \frac{k_1 \cdot E_T \cdot P}{k_{-1} + k_{tr} + k_1 \cdot P} = \frac{E_T \cdot P}{\theta + P}$$

mit dem Parameter  $\theta = (k_{-1} + k_{tr})/k_1$ , der auch als *Aktivationskoeffizient* oder *Expressionsschwellwert* bezeichnet wird und die Konzentration des Transkriptionsfaktors definiert, die gebraucht wird, um die Expression signifikant zu aktivieren. Mit dieser adiabatischen Elimination des Komplexes [EP] durch die Näherung  $d[EP]/dt = 0$ , kann die Produktionsrate der mRNA berechnet werden als

$$\frac{dR}{dt} = k_{tr}[EP] = \frac{mP}{\theta + P},$$

wobei  $m = k_{tr}E_T$  sowohl von der Produktionsrate der mRNA als auch von der Anzahl der Promoter abhängt und die maximale Transkriptionsrate darstellt.

Wenn mehrere Einheiten eines Transkriptionsfaktors P nötig sind, um die Transkription zu aktivieren, wird dies als *Kooperativität* bezeichnet. Mit der Annahme, dass die Bildung der Komplexe aus mehreren Transkriptionsfaktoren, die vor oder nach der Bindung an den

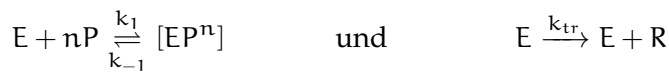
Promoter passieren kann, viel schneller abläuft als andere Reaktionen des Prozesses, erhält man für die Produktionsrate der mRNA unter Berücksichtigung der Kooperativität folgende Gleichung:

$$F^+ = \frac{dR}{dt} = \frac{mP^n}{\theta^n + P^n}.$$

Dieser Ausdruck entspricht einer *Hill-Funktion* [85], wobei der *Hill-Koeffizient*  $n$  den Grad der Kooperativität des Transkriptionsprozesses angibt.

*Hill-Funktion*

Der Fall einer Inhibition des Transkriptionsprozesses kann analog behandelt werden. Die Basisreaktionen



beschreiben den Prozess, dass ein Protein, das als inhibierender Transkriptionsfaktor wirkt, an einen Promoter bindet, wodurch ein Komplex aus Protein und Promoter gebildet wird, der keine mRNA erzeugen kann. Nur freie Promoter  $E$  führen zur Transkription einer mRNA. Für die Konzentration der mRNA folgt die Gleichung

$$F^- = \frac{dR}{dt} = \frac{m\theta^n}{\theta^n + P^n} = 1 - F^+,$$

wobei der Schwellwert der Inhibition als  $\theta = (k_1/k_{-1})^n$  definiert ist.

Der Hill-Koeffizient  $n$  kontrolliert als Grad der Kooperativität gerade die Steigung der regulatorischen Funktion. Je größer  $n$  ist, umso mehr ähnelt die Regulationsfunktion einer Stufenfunktion (vgl. Abbildung 7) und im Grenzfall  $n \rightarrow \infty$ , erhält man die Boolesche Aktualisierungsfunktion [86]. Biologisch beschreibt  $n$  die Anzahl der Proteine, die gebraucht wird um eine Sättigung der Bindung an der DNA zu erhalten [84]. Die Hill-Funktion kann als die Wahrscheinlichkeit verstanden werden, dass der Transkriptionsfaktor an der Promoter-Region gebunden ist, gemittelt über viele Bindungs- und Ablöse-Vorgänge eines Transkriptionsfaktors [43]. Neben diesen theoretischen Überlegungen schlagen auch experimentelle Hinweise [87] die Verwendung von Hill-Funktionen vor. Biologisch sinnvolle Werte der Hill-Koeffizienten liegen bei  $n \in \{1, \dots, 4\}$  [43], doch auch größere Werte wurden in biologischen Systemen beobachtet, z. B. treten bei *E. coli* Hill-Koeffizienten von  $n \approx 11$  auf [51].

*Hill-Koeffizient*

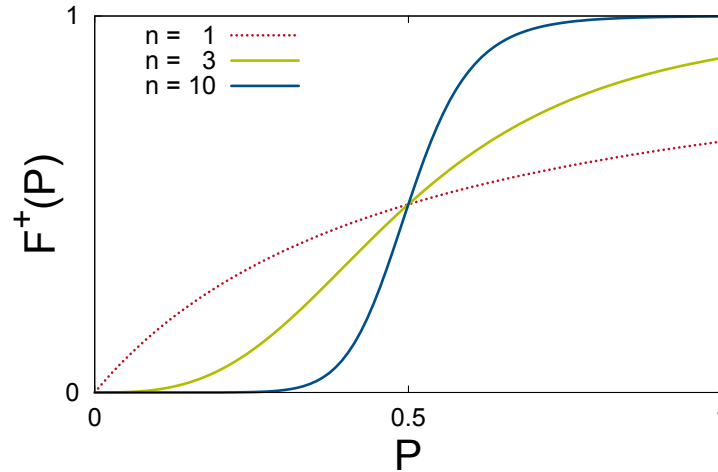


Abbildung 7: Hill-Funktion für verschiedene Werte des Hill-Koeffizienten  $n$  mit  $\theta = 0.5$ .

#### *HillCubes*

Der kombinierte Effekt von mehreren Transkriptionsfaktoren wird beschrieben durch multidimensionale Regulationsfunktionen. Ein Beispiel dafür, wie eine solche Funktion aus Genexpressionsmessungen erhalten werden kann, wurde von Setty et al. [88] gegeben, die das *lacZYA* operon von *E. coli* untersucht haben. Die Funktion  $F(P_j, P_k)$  kann z. B. das Zusammenspiel eines Aktivators  $P_j$  und eines Inhibitors  $P_k$  beschreiben [43]. Wenn Aktivator und Inhibitor unabhängig am Promoter binden können, gibt es vier mögliche Bindungszustände des Promoters: Ungebunden, gebunden an entweder  $P_j$  oder  $P_k$  oder gebunden an beide Proteine. Transkription kann beispielsweise hauptsächlich in dem Fall auftreten, wenn der Aktivator an den Promoter gebunden ist, der Inhibitor jedoch nicht. Dies resultiert in einer  $P_j$  AND NOT  $P_k$  Funktion, eine der 16 möglichen Booleschen Funktionen für zwei Eingangsknoten (siehe auch Abschnitt 2.4.1). Die einfachsten Modelle für Genregulation nutzen solche Booleschen Funktionen (siehe Abschnitt 2.4). Für zwei Transkriptionsfaktoren können die 16 Booleschen Funktionen als sogenannte *BooleCubes* im  $P_j$ - $P_k$ -Raum dargestellt werden. Eine kontinuierliche Generalisierung der *BooleCubes* in sogenannte *HillCubes* wurde von Wittmann et al. [89] vorgeschlagen und basiert auf der Hill-Funktion. Ein Beispiel eines solchen *HillCubes*, der der Regulationsfunktion  $F_i(P_j, P_k) = P_j$  AND NOT  $P_k$  entspricht, ist in Abbildung 8 gezeigt.

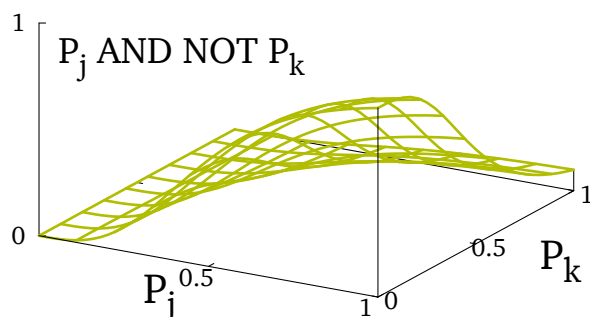


Abbildung 8: HillCube der Regulationsfunktion  $F = P_j \text{ AND NOT } P_k$ .

HillCubes werden konstruiert, indem die Summen über die jeweiligen Produkte der Hill-Funktionen genommen werden. Für die Funktion  $P_j \text{ AND NOT } P_k$  ergibt das durch den Vergleich mit der Booleschen Funktionstabelle

Gen <sub>j</sub>	Gen <sub>k</sub>	Gen <sub>m</sub>
0	0	0
0	1	0
1	0	1
1	1	0

die Summe

$$\begin{aligned}
 F_m^{\text{ANDNOT}}(P_j, P_k) &= 0 (F^-(P_j) \cdot F^-(P_k)) \\
 &\quad + 0 (F^-(P_j) \cdot F^+(P_k)) \\
 &\quad + 1 (F^+(P_j) \cdot F^-(P_k)) \\
 &\quad + 0 (F^+(P_j) \cdot F^+(P_k)).
 \end{aligned}$$

Mit Hilfe der Hill-Funktion und der HillCubes können die Differentialgleichungen (1) je nach System und vorliegender Regulation spezifiziert werden, um anschließend die Dynamik des Netzwerks zu betrachten. Die dynamischen Systeme, die in dieser Arbeit untersucht werden, sind dissipative Systeme, in denen es Gebiete des Phasenraums gibt, in denen sich ein Phasenraumvolumenelement mit der Zeit zusammenzieht. Dissipative Systeme haben Attraktoren im Phasenraum, die z. B. Grenzzyklen oder Fixpunkte sein können.

In solchen Systemen kann zwischen transientem Verhalten und Langzeitverhalten unterschieden werden. Auf Transienten nähert sich das System bestimmten Regionen im Phasenraum an, in denen es dann für alle Zeit bleibt. Die Bahn, die dabei von einem Zustand des Systems im Phasenraum zurückgelegt wird, heißt Trajektorie.

Eine Möglichkeit des Langzeitverhaltens eines dynamischen Systems ist Stationarität, d. h. ein System, das durch die Variablen  $\vec{x}$  und die Differentialgleichungen  $\dot{\vec{x}} = \vec{f}(\vec{x})$  beschrieben wird, landet auf einem Gleichgewichtszustand  $\vec{x}^*$ , für den gilt, dass  $\vec{f}(\vec{x}^*) = 0$ . Ein solcher Gleichgewichtspunkt  $\vec{x}^*$  kann verschieden auf kleine Störungen reagieren und die dynamische Antwort auf eine Störung kann mit vier verschiedenen Fällen beschrieben werden: a) Die Störung wird abgedämpft und das System kehrt zu seinem Ausgangszustand zurück. b) Die Störung wird verstärkt, d. h. der Zustand ist instabil. Das System kehrt nicht zu seinem Ausgangszustand zurück. c) Das System oszilliert bei der Rückkehr zum Ausgangszustand. d) Der Zustand ist instabil und es kommt zu Oszillationen.

Um diese qualitativen Unterschiede im dynamischen Verhalten nahe eines Fixpunktes zu untersuchen, gibt es zwei Möglichkeiten: Die Differentialgleichungen können entweder numerisch simuliert werden, um die Zeitreihen des Systems mit verschiedenen Startwerten zu analysieren, oder die Dynamik wird mit Hilfe einer linearen Stabilitätsanalyse untersucht.

### 2.3.3 Lineare Stabilitätsanalyse

Die lineare Stabilitätsanalyse erlaubt es, die lokale Stabilität eines Gleichgewichtspunktes  $\vec{x}^*$  eines Differentialgleichungssystems

$$\dot{\vec{x}} = \vec{f}(\vec{x}) \quad (3)$$

zu beschreiben, für den gilt, dass  $\vec{f}(\vec{x}^*) = 0$ . Damit können Aussagen über die lokale Dynamik eines Systems zu getroffen werden, ohne Zeitreihen verschiedener Simulationen zu betrachten.

Es wird das Verhalten einer Trajektorie  $\vec{x}^* + \Delta\vec{x}$  (mit  $\Delta\vec{x}$  klein) in der Nähe des Fixpunktes betrachtet. Eine Taylorentwicklung um den Fix-



punkt  $\vec{x}^*$  bis zur ersten Ordnung nähert das Differentialgleichungssystem durch ein lineares System an:

$$\begin{aligned}\vec{f}(\vec{x}^* + \Delta\vec{x}) &= \vec{f}(\vec{x}^*) + J(\vec{x}^*) \cdot \Delta\vec{x} \\ &= J(\vec{x}^*) \cdot \Delta\vec{x},\end{aligned}$$

mit der Jacobi-Matrix

$$J(\vec{x}^*) = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1(\vec{x})}{\partial x_1} \big|_{\vec{x}^*} & \cdots & \frac{\partial f_1(\vec{x})}{\partial x_n} \big|_{\vec{x}^*} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n(\vec{x})}{\partial x_1} \big|_{\vec{x}^*} & \cdots & \frac{\partial f_n(\vec{x})}{\partial x_n} \big|_{\vec{x}^*} \end{pmatrix} \quad (4)$$

an der Stelle des Fixpunktes  $\vec{x}^*$ , die alle ersten partiellen Ableitungen von  $\vec{f}$  enthält. Wegen  $\frac{d}{dt}(\vec{x}^* + \Delta\vec{x}) = \frac{d}{dt}(\Delta\vec{x})$  und Gleichung (3) folgt

$$\frac{d}{dt}(\Delta\vec{x}) = J(\vec{x}^*) \cdot \Delta\vec{x}. \quad (5)$$

Diese Matrixgleichung kann gelöst werden durch den Ansatz

$$\Delta\vec{x}(t) = \sum_{j=1}^n \vec{c}_j \cdot e^{\lambda_j t}, \quad (6)$$

wobei  $\vec{c}_j$  bzw.  $\lambda_j$  die Eigenvektoren bzw. Eigenwerte der Jacobi-Matrix  $J$  am Fixpunkt  $\vec{x}^*$  sind [90]. Die Eigenwerte der Jacobi-Matrix geben damit Auskunft über das Verhalten der Trajektorien, die sich im Abstand  $\Delta\vec{x}$  vom Fixpunkt  $\vec{x}^*$  befinden. Haben alle Eigenwerte der Jacobi-Matrix negative Realteile  $\lambda_R$ , so zerfällt eine Störung  $\Delta\vec{x}$  und der Gleichgewichtszustand ist stabil. Wenn im Gegensatz einer oder mehrere Eigenwerte positive Realteile haben, ist die Störung in Richtung des jeweiligen Eigenvektors verstärkt und der Gleichgewichtszustand ist instabil. Damit kann die Stabilitätsanalyse auf ein Eigenwertproblem reduziert werden, wobei im Wesentlichen der Eigenwert mit dem größten Realteil  $\lambda_R^{\max}$  die Stabilität des Systems bestimmt. Es treten vier verschiedene Fälle auf (vgl. auch Abbildung 9 für ein zweidimensionales System):

- **Stabiler Knoten:** Alle Eigenwerte sind reell und negativ. Der Eigenwert mit dem größten Realteil  $\lambda_R^{\max}$  bestimmt das Zeitverhalten des Systems.

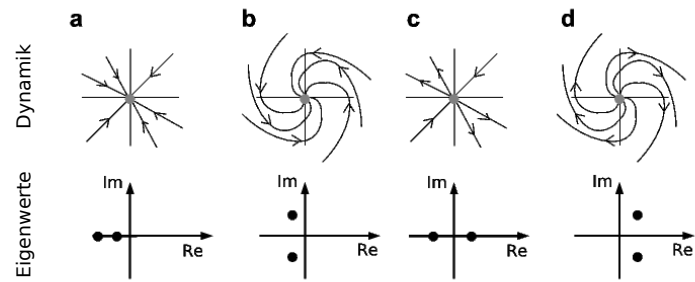


Abbildung 9: Möglichkeiten der Eigenwerte der Jacobi-Matrix und die daraus resultierende Dynamik. Übergang zwischen a und c: Sattel-Knoten-Bifurkation, Übergang zwischen b und d: Hopf-Bifurkation (aus [91]).

- Stabile Spirale: Die Realteile aller Eigenwerte sind negativ, die Eigenwerte weisen jedoch (paarweise komplex konjugierte) Imaginärteile auf.
- Sattelpunkt: Es gibt Eigenwerte mit positivem und negativem Realteil, so dass  $\lambda_R^{max}$  positiv ist.
- Instabile Spirale:  $\lambda_R^{max}$  ist positiv und die Eigenwerte haben zudem komplex konjugierte Imaginärteile. Es kommt zu Oszillationen.

#### Bifurkationen

Von besonderem Interesse sind auch die Übergänge zwischen den verschiedenen Fällen, sogenannte Bifurkationen, die auf qualitative Änderungen der Dynamik des Systems hinweisen. Wenn verschiedene Systeme mit verschiedenen Parametern untersucht werden, können diese eine unterschiedliche Dynamik aufweisen, d.h. sowohl die Anzahl als auch der Typ der Attraktoren können sich unterscheiden. Der Übergang zwischen verschiedenen Regionen im Parameterraum geschieht am Bifurkationspunkt oder an der Bifurkationsfläche. Es kommt unter Einfluss eines Parameters, dem Bifurkationsparameter, zu einer Zustandsänderung des nichtlinearen Systems. Die Codimension der Bifurkation gibt dabei die minimale Anzahl an Parametern an, die variiert werden muss, damit die Bifurkation auftritt. Bifurkationsflächen teilen den Parameterraum damit in Regionen auf, die beobachtbare Eigenschaften eines dynamischen Systems angeben, die genutzt werden können, um ein theoretisches Modell mit dem beschriebenen experimentellen System zu vergleichen. Die Variation experimenteller Parameter innerhalb einer Region sollte keine qualitative Änderung des Verhaltens

hervorbringen, doch schon kleine Änderungen in der Nähe einer Bifurkationsfläche können zu plötzlichen Übergängen führen.

Der erste Typ von lokalen Bifurkationen der Codimension 1 beschreibt den Übergang von einem stabilen zu einem instabilen Gleichgewichtspunkt (siehe Abbildung 9, Übergang von a zu c). Beim Vorzeichenwechsel des zugehörigen Eigenwerts der Jacobi-Matrix ändert sich das Stabilitätsverhalten eines Fixpunktes: Für  $\lambda_R^{\max} < 0$  ist ein stabiler Fixpunkt zu finden, für  $\lambda_R^{\max} > 0$  handelt es sich um einen instabilen Fixpunkt. Das bedeutet, ein einzelner Eigenwert gleich 0 weist auf das Erzeugen oder Vernichten von Fixpunkten oder den Austausch von Stabilitätseigenschaften zwischen zwei Fixpunkten hin. Bifurkationen dieser Art sind Sattel-Knoten-Bifurkationen, die transkritische Bifurkation oder die Heugabel-Bifurkation. Sie können dadurch bestimmt werden, dass die Determinante der Jacobi-Matrix am Bifurkationspunkt verschwindet.

Ein zweiter Typ von lokalen Bifurkationen der Codimension 1 ist die Hopf-Bifurkation, die sich dadurch auszeichnet, dass zwei rein imaginäre Eigenwerte vorliegen, die komplex konjugiert sind. Wenn das System sich vor der Bifurkation auf einem stabilen Fixpunkt befindet, wird der Gleichgewichtszustand an der Bifurkation instabil, und wenn die Bifurkation superkritisch ist, entsteht ein Grenzzyklus in der Nähe des instabilen Fixpunkts. Damit beschreibt eine Hopf-Bifurkation einen Übergang von stationärer zu periodischer Bewegung (siehe auch Abbildung 9, Übergang von b zu d).

Ein Nachteil der lokalen Stabilitätsanalyse ist die Abhängigkeit der Jacobi-Matrix von den Konzentrationswerten der Fixpunkte des Systems. Für ein Netzwerk aus drei Knoten beispielsweise können diese Gleichgewichtskonzentrationen nicht mehr analytisch berechnet werden, sondern müssen numerisch bestimmt werden. Eine Methode, die Ergebnisse unabhängig von den genauen Fixpunktkonzentrationen liefert, ist die im folgenden Abschnitt vorgestellte *generalisierte Methode*.

#### 2.3.4 Generalisierte Methode

Generalisierte Modelle stellen eine Methode dar, die lokale Dynamik eines Systems unabhängig von der genauen Form der Regulations-

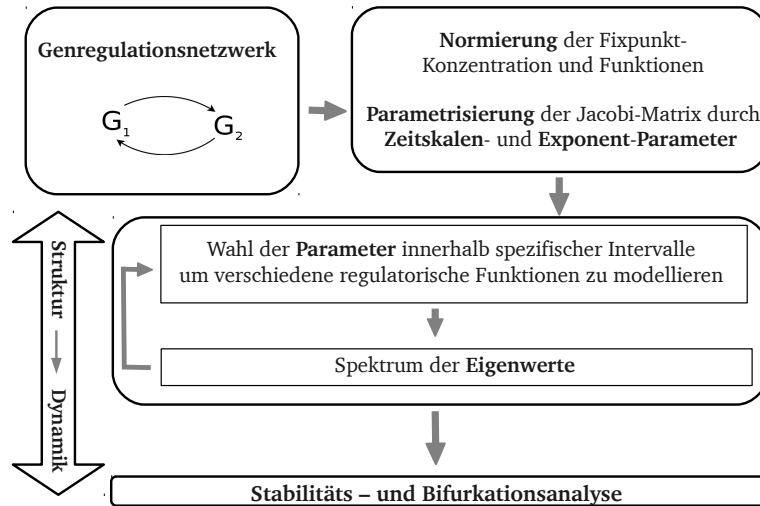


Abbildung 10: Generalisierte Methode in Anwendung auf Genregulationsnetzwerke (nach [91]).

funktionen und der Werte der Gleichgewichtskonzentrationen zu untersuchen. Die Grundidee dieses Formalismus, der von Gross und Feudel [19] eingeführt wurde, ist eine Parametrisierung der Jacobi-Matrix [92]. Generalisierte Modelle wurden schon erfolgreich auf ökologische Netzwerke [93, 19, 94], sozio-ökonomische Modelle [19] und metabolische Netzwerke angewendet [92, 95, 42]. Im Folgenden soll die Anwendung der generalisierten Methode auf Differentialgleichungssysteme der Genregulation vorgestellt werden, wie sie in Gleichung (1) formuliert wurden.

Die Parametrisierung der Jacobi-Matrix wird durch eine Normierung der Konzentrationen und Funktionen des Differentialgleichungssystems erreicht. Mit der Annahme, dass mindestens ein Fixpunkt  $R_i^*, P_i^*$  mit positiven Konzentrationen existiert, können normierte Zustandsvariablen  $r_i = \frac{R_i}{R_i^*}$ ,  $p_i = \frac{P_i}{P_i^*}$  und normierte Funktionen  $\tilde{f}_j(p_i) = \frac{F_j(P_i^* p_i)}{F_j^*}$  definiert werden mit der abgekürzten Schreibweise  $F_j^* = F_j(P_i^*)$ . Durch diese Normierung werden die Werte der Fixpunkte des Systems auf  $r_i^* = p_i^* = 1$  vereinfacht. Das Umschreiben von Gleichung (1) in die normierten Variablen ergibt

$$\begin{aligned} \dot{r}_i &= \epsilon \left( \frac{F_i^*}{R_i^*} \tilde{f}_i(p_1, \dots, p_N) - \gamma_i r_i \right), \\ \dot{p}_i &= \frac{R_i^*}{P_i^*} \omega_i r_i - \delta_i p_i. \end{aligned}$$

Für eine lokale Stabilitätsanalyse wird das System am Fixpunkt  $r_i^* = p_i^* = 1$  betrachtet, an dem gilt, dass  $\dot{r}_i = \dot{p}_i = 0$  und  $\tilde{f}_j(p_i) = 1$ . Damit können neue Parameter

$$\begin{aligned}\alpha_i &= \epsilon F_i^*/R_i^* = \epsilon \gamma_i, \\ \beta_i &= \omega_i R_i^*/P_i^* = \delta_i\end{aligned}\quad (7)$$

eingeführt werden, mit denen sich das Modell schließlich formulieren lässt als

$$\begin{aligned}\dot{r}_i &= \alpha_i(\tilde{f}_i(p_1, \dots, p_N) - r_i), \\ \dot{p}_i &= \beta_i(r_i - p_i).\end{aligned}\quad (8)$$

Für ein Netzwerk aus zwei mRNAs und zwei Proteinen, die sich gegenseitig regulieren, ergibt sich damit beispielsweise folgende Jacobi-Matrix:

$$\begin{aligned}J &= \left( \begin{array}{cc|cc} -\alpha_1 & 0 & 0 & \alpha_1 \cdot \frac{\partial \tilde{f}_1}{\partial p_2} \\ 0 & -\alpha_2 & \alpha_2 \cdot \frac{\partial \tilde{f}_2}{\partial p_1} & 0 \\ \hline \beta_1 & 0 & -\beta_1 & 0 \\ 0 & \beta_2 & 0 & -\beta_2 \end{array} \right) \\ &= \left( \begin{array}{c|c} \text{mRNA-Zerfall} & \text{Transkription} \\ \hline \text{Translation} & \text{Protein-Zerfall} \end{array} \right)\end{aligned}\quad (9)$$

Aufgrund der Normierung liegt eine parametrisierte Jacobi-Matrix vor, die nur wenige Variablen enthält, die gut interpretiert werden können:  $\alpha$  und  $\beta$  sind *Skalenparameter* [19], die die inversen Zeitskalen der Konzentrationsänderungen angeben. Wenn angenommen wird, dass für alle Gene jeweils die Transkriptions- und Translationsprozesse auf der gleichen Zeitskala ablaufen, beschreibt das Zeitskalenverhältnis  $\alpha_i/\beta_i = \epsilon \gamma_i/\delta_i \sim \epsilon$  gerade das Verhältnis der Zeitskalen von mRNA- zur Protein-Dynamik. Ein hoher Wert von  $\epsilon$  entspricht einer quasi-steady-state Annahme der mRNA, d. h. die mRNA-Transienten sterben schnell aus (siehe auch Abschnitt 2.3.1).

Die verbleibenden Parameter sind die Ableitungen der generalisierten Funktionen nach den Protein-Konzentrationen. Im Folgenden werden die Terme  $\frac{\partial \tilde{f}_j}{\partial p_i}$  mit  $i, j \in \{1, 2, 3, \dots, N\}$  als  $\tilde{f}_{ji}$  bezeichnet und als neue Variablen behandelt, die *Exponent-Parameter* [19] genannt werden. Da sie den Grad der Nichtlinearität des Prozesses im Fließgleichgewicht angeben [93], können die Variablen  $\tilde{f}_{ji}$  als Indi-

katoren für das Level der Kooperativität der Bindung des Proteins gesehen werden (siehe Abschnitt 2.3.1), und damit als Indikator für den Hill-Koeffizienten  $n$ . Es sei  $F$  die Hill-Funktion

$$F^+ = \frac{p^n}{\theta^n + p^n}$$

eines Aktivators. Dann gilt für die normierte Funktion

$$\begin{aligned}\tilde{f}(p) &= \frac{F^+(P^*p)}{F^+(P^*)} \\ &= p^n \frac{\theta^n + P^{*n}}{\theta^n + P^{*n}p^n},\end{aligned}$$

und für die Ableitung an der Stelle  $p^* = 1$

$$\left. \frac{\partial \tilde{f}(p)}{\partial p} \right|_{p^*=1} = \frac{n}{1 + (P^*/\theta)^n}. \quad (10)$$

Damit sind die Exponent-Parameter  $\tilde{f}_j p_i$  beschränkt auf das Intervall  $[0, n_i]$ , wenn Protein  $i$  ein Aktivator ist, und analog gilt  $\tilde{f}_j p_i \in [-n_i, 0]$ , wenn Protein  $i$  ein Inhibitor ist.

Ein Vorteil der Normierung ist, dass die Ableitungen  $\tilde{f}_j p_i$  als neue Variablen genutzt werden können, für die unabhängig von der genauen Form der Regulationsfunktion folgende Aussagen getroffen werden können: Positive Werte von  $\tilde{f}_j p_i$  bedeuten, dass Protein  $i$  ein Aktivator der mRNA  $j$  ist, negative Werte bedeuten, dass Protein  $i$  in der Regulationsfunktion  $F_j$  als Inhibitor wirkt, und wenn  $\tilde{f}_j p_i$  verschwindet, hat Protein  $i$  keinen Einfluss auf mRNA  $j$ . Damit können verschiedene Modelle eines Systems und die resultierende Dynamik verglichen werden, ohne explizite Werte der Konzentrationen am Fixpunkt oder der Schwellwerte der Regulation zu kennen. So entspricht beispielsweise das Auswechseln eines Aktivators durch einen Inhibitor einem Vorzeichenwechsel des entsprechenden Exponent-Parameters. Die Auswirkung solcher funktionellen oder strukturellen Änderungen des Modells auf die Dynamik kann mit Hilfe der generalisierten Methode umfassend analysiert werden. Eine schematische Darstellung generalisierter Modelle in Anwendung auf Genregulationsnetzwerke zeigt Abbildung 10. Im Rahmen dieser Arbeit wird die generalisierte Methode für den Vergleich der kontinuierlichen und Booleschen Dynamik kleiner Genregulationsnetzwerke genutzt (siehe Kapitel 3).

## 2.4 BOOLESCHE MODELLIERUNG

Eine qualitative, abstrakte Beschreibung von Genregulationsnetzwerken sind Boolesche Modelle. Das Boolesche Netzwerk ist definiert als ein gerichteter Graph von  $N$  Knoten, die einzelne Gene darstellen, sodass jeder Knoten als Gen für die beiden zugehörigen Makromoleküle mRNA und Protein steht. Die Gene regulieren gegenseitig ihre Expression durch die jeweilige Regulation der Transkription (siehe Abschnitt 2.2). Das Expressionslevel  $\sigma$  eines Gens wird mit einem von zwei möglichen Werten, 1 oder 0, angegeben [10, 11]: Entweder das Gen wird exprimiert, d.h. die Prozesse der Transkription und Translation finden statt, dann ist das Gen eingeschaltet (1), oder das Gen wird nicht exprimiert, dann ist es ausgeschaltet (0).

Neben den Konzentrationswerten werden auch die Zeitintervalle, in denen die Zustandsänderung der Knoten erfolgt, diskret modelliert. In den einfachsten, hier betrachteten Booleschen Netzwerken werden alle Knoten synchron aktualisiert, d.h. für alle Knoten wird gleichzeitig der neue Zustand berechnet, jeweils in Abhängigkeit jener Knoten, die als Eingangsknoten dienen.

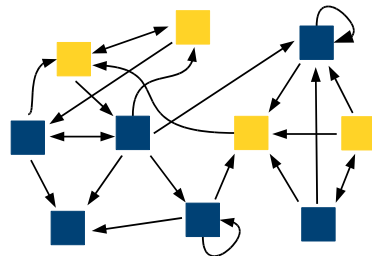


Abbildung 11: Beispiel eines Netzwerks mit zehn Knoten. Die Knoten repräsentieren einzelne Gene, die gegenseitig den Ablauf der Expression regulieren. Die Zustände der Knoten können einen der Booleschen Werte 1 oder 0 annehmen (dargestellt in gelb bzw. blau).

## 2.4.1 Boolesche Funktionen

Die Aktualisierungsfunktionen der einzelnen Gene sind Funktionen der Expressionslevel jener Gene, durch die die Transkription beeinflusst wird. Eine Boolesche Funktion kann als Zeichenkette von Nul-

In	$\mathcal{F}$		$\mathcal{K}$	$\mathcal{J}$
0	0	1	0	1
1	0	1	1	0

Tabelle 1: Wahrheitstabelle der vier möglichen Booleschen Funktionen für einen Knoten mit nur einem Eingangsknoten. Die Funktionen sind entweder konstante Funktionen ( $\mathcal{F}$ ) oder die Kopier- bzw. Invertier-Funktion.

In	$\mathcal{F}$		$\mathcal{C}_1$				$\mathcal{C}_2$								$\mathcal{R}$	
0 0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0
0 1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1
1 0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1
1 1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0

Tabelle 2: Wahrheitstabelle der 16 möglichen Booleschen Funktionen für einen Knoten mit zwei Eingangsknoten. Die Funktionen können unterteilt werden in konstante Funktionen ( $\mathcal{F}$ ), kanalisierende Funktionen mit zwei oder drei identischen Einträgen ( $\mathcal{C}_1$  bzw.  $\mathcal{C}_2$ ) und reversible Funktionen ( $\mathcal{R}$ ) [96].

len und Einsen dargestellt werden, die jeder möglichen Kombination von Eingangswerten einen Ausgangswert zuordnet und damit die Länge  $2^k$  hat, wobei  $k$  die Anzahl der Eingangsknoten des betrachteten Knotens ist. Die Aktualisierungsfunktion legt den nächsten Zustand des Knotens für jede der  $2^k$  Kombinationen der Eingangswerte fest. Damit gibt es  $2^{2^k}$  verschiedene Funktionen.

Wird ein Knoten von nur einem anderen Knoten reguliert ( $k = 1$ ), gibt es  $2^{2^1} = 4$  Möglichkeiten für die Aktualisierungsfunktionen der Länge  $2^1$ : Der Knoten kann eine konstante Funktion ( $\mathcal{F}$ ) haben, dann ist sein Zustand immer 0 oder 1, oder das andere Gen kann aktivierend bzw. inhibierend sein. Ein Aktivator wird mit der Booleschen Kopier-Funktion ( $\mathcal{K}$ ) beschrieben und ein Inhibitor durch eine Invertier-Funktion ( $\mathcal{J}$ ). Diese vier möglichen Aktualisierungsfunktionen sind in Tabelle 1 gezeigt.

Für ein Gen mit  $k = 2$  Eingangsknoten gibt es  $2^{2^2} = 16$  mögliche Boolesche Funktionen: konstante Funktionen ( $\mathcal{F}$ ), kanalisierende Funktionen mit zwei oder drei identischen Einträgen ( $\mathcal{C}_1$  bzw.  $\mathcal{C}_2$ ), und reversible Funktionen ( $\mathcal{R}$ ). Tabelle 2 zeigt die 16 möglichen Aktualisierungsfunktionen. Die Knoten des Netzwerks können ihren Zustand in einem Zeitschritt immer nur dann ändern, wenn jene



Knoten, die als Eingangsknoten dienen, im vorherigen Zeitschritt ihren Zustand geändert haben. Je nach Aktualisierungsfunktion gibt es jedoch Unterschiede: Knoten mit konstanten Funktionen ( $\mathcal{F}$ ) werden ihren Zustand nie ändern und im Gegensatz dazu ändern Knoten mit reversiblen Funktionen ( $\mathcal{R}$ ) ihren Ausgabewert immer, wenn einer der Eingangsknoten sein Expressionslevel geändert hat. Bei kanalisierenden Funktionen ist der Wert des Knotens mindestens für einen Wert eines Eingangsknotens fest, unabhängig vom Wert der anderen Eingangsknoten. Bei Typ 1 der kanalisierenden Funktionen ( $\mathcal{C}_1$ ) hängt die Aktualisierungsfunktion gar nicht vom Zustand eines Eingangsknotens ab, sie kopiert oder invertiert einfach den Wert des anderen Eingangsknotens. Bei Typ 2 der kanalisierenden Funktionen ( $\mathcal{C}_2$ ) für einen Knoten mit zwei Eingangsknoten enthält die Aktualisierungsfunktion drei Einsen oder drei Nullen. Deshalb existiert für jeden der zwei Eingangsknoten ein Wert, der die Ausgabe fixiert, unabhängig vom Zustand des anderen Knotens.

#### 2.4.2 Boolesche Dynamik

Wenn sowohl die Topologie eines Booleschen Netzwerks als auch die Funktionen festgelegt sind, kann die Dynamik des Systems bestimmt werden. Dabei spielt die Abfolge der einzelnen Netzwerkzustände im Zustandsraum eine wichtige Rolle. Als Netzwerkzustand wird der Vektor aller Zustandsvariablen der einzelnen Knoten eines Netzwerks bezeichnet:

$$\vec{\sigma}(t) = \{\sigma_1(t), \sigma_2(t), \dots, \sigma_N(t)\}$$

Zu Beginn einer Simulation muss ein Anfangszustand für das Netzwerk gewählt werden. Da in der Booleschen Dynamik jeder Knoten nur zwei Werte annehmen kann, besteht der Zustandsraum aus  $2^N$  verschiedenen Zuständen, die durch ihre zeitliche Abfolge miteinander verbunden sind. Für jeden Netzwerkzustand gibt es genau einen Nachfolger, da die Aktualisierung der Zustände deterministisch erfolgt. Die Endlichkeit des Netzwerks führt zudem dazu, dass die Trajektorien im Zustandsraum periodisch werden. Die periodischen Bereiche werden als Zyklen bezeichnet. Sie sind Attraktoren, wenn es Abfolgen von Zuständen gibt, die als sogenannte Transienten zu ihnen hin führen. Die Anzahl der Zustände des Attraktors heißt Attraktorlänge und ein Attraktor der Länge 1 entspricht einem Fixpunkt des

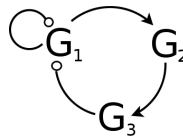


Abbildung 12: Beispiel eines Booleschen Netzwerks aus drei Knoten.

Systems. Die Dynamik verschiedener Netzwerke unterscheidet sich u. a. in der Anzahl und Länge der auftretenden Attraktoren. Im Folgenden soll die Untersuchung der Dynamik Boolescher Netzwerke anhand eines Beispiels näher erläutert werden.

#### 2.4.3 Untersuchung der Booleschen Dynamik eines Beispiel-Systems

Als Beispiel soll ein Netzwerk aus drei Knoten betrachtet werden, das auch im Laufe dieser Arbeit näher untersucht wird (vgl. Abschnitt 3.2). Die drei Knoten sollen sich als Ring angeordnet gegenseitig regulieren und Knoten 1 wirkt zusätzlich auf sich selbst (siehe Abbildung 12).

Jeder der drei Knoten kann zwei Zustände  $\sigma_i$  annehmen, 1 und 0, so dass der Zustandsraum aus  $2^3 = 8$  verschiedenen Netzwerkzuständen der Form  $\{\sigma_1(t)\sigma_2(t)\sigma_3(t)\}$  besteht. Abhängig davon, welche Aktualisierungsfunktionen für die einzelnen Knoten gelten, kann die Verknüpfung des Zustandsraumes bestimmt werden. Wir nehmen an, dass Knoten  $G_2$  und  $G_3$  den Zustand des Eingangsknotens kopieren und die Aktualisierungsfunktion von Knoten  $G_1$  sei die dritte der kanalisierenden Funktionen  $\mathcal{C}_2$ :  $G_1$  AND NOT  $G_3$ . Die Dynamik des Systems bei paralleler Aktualisierung der Knoten ist vollständig bestimmt, da durch die Aktualisierungsfunktionen für jeden Zustand des Systems der nächste Netzwerkzustand angegeben werden kann.

Der Zustandsraum des Netzwerks ist in Abbildung 13 gezeigt: Der Netzwerkzustand 000 ist ein Fixpunkt des Systems und es liegt ein Zyklus der Länge  $L = 3$  vor, der aus den Zuständen 010, 001 und 100 besteht. Da mehrere andere Zustände als Transienten auf den Zyklus führen, ist dieser ein Attraktor. Abhängig davon, auf welchem Zustand eine Simulation gestartet wird, zeigt sich ein unterschiedliches Verhalten: Entweder endet die Dynamik auf dem Zyklus, der sich dann immer wiederholt, oder sie verbleibt auf dem Anfangszustand, falls dieser gerade der Fixpunkt des Systems ist.

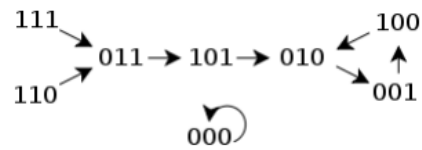


Abbildung 13: Zustandsraum des Booleschen Netzwerks aus drei Knoten:  
Das System hat einen Fixpunkt und einen Zyklus der Länge drei.

Für jeweils zwei Zustände des Zustandsraums kann der *Hamming-Abstand* [97] bestimmt werden. Dieser ist definiert als die Anzahl von Knoten, in denen sich die Netzwerkzustände unterscheiden. Für den Zyklus des betrachteten Systems (siehe Abbildung 13) haben die aufeinanderfolgenden Zustände beispielsweise jeweils einen Hamming-Abstand  $h = 2$ .

*Hamming-Abstand*

In dieser Arbeit werden kleine, abstrakte Netzwerke genutzt um die Boolesche Dynamik mit der Dynamik kontinuierlicher Modelle zu vergleichen. Es sollen generelle Kriterien für eine Übereinstimmung gefunden werden, die sowohl von topologischen Eigenschaften, als auch von dynamischen Eigenschaften der Netzwerke abhängen.



## UNTERSUCHUNG VON NETZWERKEN MIT GLEICHEN TOPOLOGISCHEN EIGENSCHAFTEN

---

In diesem ersten Ergebnis-Kapitel der Arbeit wird die Untersuchung kleiner Netzwerk-Module und der Vergleich der Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells vorgestellt. Es werden Netzwerke mit gleichen topologischen Eigenschaften aber unterschiedlichen Funktionen untersucht, um die Übereinstimmung zwischen dem Booleschen und kontinuierlichen Modell abhängig von den jeweiligen Funktionen und der sich daraus ergebenden Dynamik zu analysieren. Für das kontinuierliche Modell werden die Differentialgleichungen des Systems aufgestellt und zur Untersuchung der Dynamik wird eine lokale Stabilitätsanalyse mit Hilfe der generalisierten Methode (siehe Abschnitt 2.3) durchgeführt. Für das Boolesche Modell wird der Zustandsraum analysiert, wie in Abschnitt 2.4 beschrieben.

Die betrachteten Module sind zunächst *einfache Feedback-Schleifen*, d. h. die Gene sind ringförmig verknüpft, wobei die Regulation jedes Gens durch genau ein anderes beeinflusst wird. Die Analyse beginnt mit dem kleinstmöglichen System aus zwei Genen (Abschnitt 3.1.1), bevor die Untersuchung in Abschnitt 3.1.2 und Abschnitt 3.1.3 auf Systeme aus drei und schließlich N Genen erweitert wird.

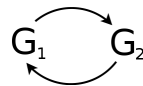
Im Anschluss werden *gekoppelte Feedback-Schleifen* untersucht, d. h. die Schleifen haben eine zusätzliche Kante, so dass eines der Gene zwei Eingangsknoten hat. Diese weitere Kante kann eine Selbstregulation sein, oder ein Gen kann durch ein zweites, anderes Gen reguliert werden. Dadurch treten Funktionen auf, die von zwei Eingangsknoten abhängen, so wie sie in Abschnitt 2.4.1 vorgestellt wurden. Auch für diese Netzwerke beginnt die Untersuchung mit dem kleinstmöglichen System aus zwei Genen, bevor in Abschnitt 3.2.2 und Abschnitt 3.2.3 gekoppelte Feedback-Schleifen mit drei und schließlich N Genen betrachtet werden.

Die Ergebnisse dieses Teils der Arbeit sind zum Teil in Zusammenarbeit mit Torsten Pfaff, Eva Marie Weiel und Barbara Drossel entstanden und wurden in den Zeitschriften *Physical Review E* [98] und *European Physical Journal E* [99] veröffentlicht.

### 3.1 EINFACHE FEEDBACK-SCHLEIFEN

Typische Interaktionen in Genregulationsnetzwerken sind Feedback-Schleifen, in denen Information vom Ausgang eines Systems wieder zum Eingang gesendet wird. Für diese Netzwerke soll die Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells verglichen werden. Ein biologisches Beispiel einer einfachen Feedback-Schleifen ist der Zellzyklus des *Xenopus Embryo* [100].

#### 3.1.1 Netzwerke aus zwei Genen



Bei zwei Genen können die beiden regulatorischen Funktionen entweder das gleiche Vorzeichen haben, dann liegt ein Aktivator-Aktivator- oder ein Inhibitor-Inhibitor-Komplex vor, oder sie haben unterschiedliche Vorzeichen und bilden einen Aktivator-Inhibitor-Komplex.

Im Booleschen Modell ist eine aktivierende Interaktion durch die Boolesche Kopier-Funktion implementiert und eine inhibierende Interaktion durch eine Invertier-Funktion (siehe Abschnitt 2.4.1). Die Boolesche Version dieses Systems aus zwei Knoten hat vier mögliche Netzwerkzustände: 00, 01, 10, und 11. Für den Fall eines Aktivator-Aktivator- oder Inhibitor-Inhibitor-Komplexes hat das Boolesche System zwei Fixpunkte und einen Zyklus. Der Zyklus alterniert zwischen 01 und 10 für den Aktivator-Aktivator-Komplex und zwischen 00 und 11 für den Fall eines Inhibitor-Inhibitor-Komplexes. Die jeweils verbleibenden Zustände sind die Fixpunkte des Systems. Für den gemischten Fall des Aktivator-Inhibitor-Komplexes hat das Boolesche Modell einen Zyklus, der aus allen vier Netzwerkzuständen besteht:  $00 \rightarrow 10 \rightarrow 11 \rightarrow 01 \rightarrow 00$  (siehe auch Abbildung 14).

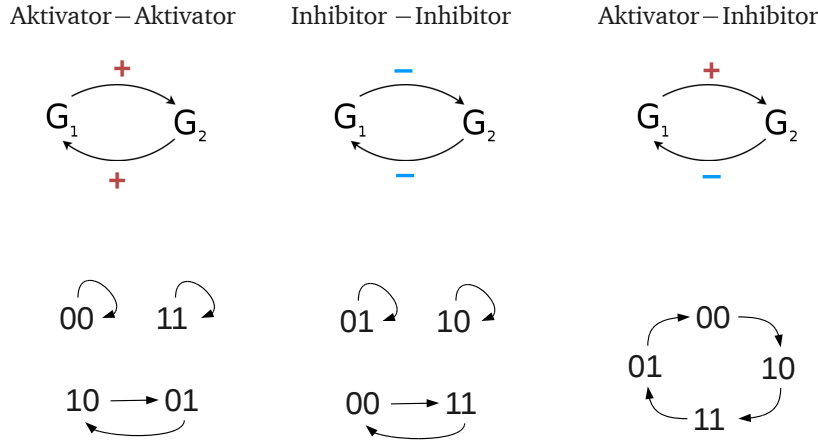


Abbildung 14: Boolesche Dynamik der einfachen Feedback-Schleife aus zwei Genen. Das System kann aus zwei Aktivatoren, zwei Inhibitoren oder einem Aktivator und einem Inhibitor bestehen.

Für das kontinuierliche Modell werden die Differentialgleichungen für die Konzentrationen der mRNAs und Proteine aufgestellt, wie in Abschnitt 2.3.1 beschrieben. Für das Systems aus zwei Genen ( $i \in \{1, 2\}$ ), die sich gegenseitig regulieren, lauten die Differentialgleichungen:

$$\begin{aligned} \dot{R}_i &= \epsilon(F_i(P_1, P_2) - \gamma_i R_i), \\ \dot{P}_i &= \omega_i R_i - \delta_i P_i. \end{aligned} \quad (11)$$

Mit Hilfe der generalisierten Methode soll im Folgenden eine lokale Stabilitätsanalyse durchgeführt und die Eigenwerte der Jacobi-Matrix analysiert werden. Dazu werden normierte Zustandsvariablen  $r_i = \frac{R_i}{R_i^*}$  bzw.  $p_i = \frac{P_i}{P_i^*}$  und normierte Funktionen  $\tilde{f}_j(p_i)$  eingeführt, wobei  $R_i^*, P_i^*$  die Konzentrationen eines Fixpunkt des Systems seien (siehe Abschnitt 2.3.4). Die Jacobi-Matrix des Systems am Fixpunkt ist für die neuen Gleichungen

$$J = \left( \begin{array}{cc|cc} -\epsilon & 0 & 0 & \epsilon \cdot \tilde{f}_1 p_2 \\ 0 & -\epsilon & \epsilon \cdot \tilde{f}_2 p_1 & 0 \\ \hline 1 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & -1 \end{array} \right) \quad (12)$$

wobei  $\tilde{f}_j p_i$  jeweils die Ableitungen der normierten Funktionen  $\tilde{f}_j$  nach den normierten Konzentrationen der regulierenden Proteine  $p_i$

am Fixpunkt  $p_i^* = 1$  darstellen. Die Jacobi-Matrix kann in Form von vier separaten Matrizen geschrieben werden,

$$J = \left( \begin{array}{c|c} \text{mRNA-Zerfall} & \text{Transkription} \\ \hline \text{Translation} & \text{Protein-Zerfall} \end{array} \right)$$

so dass für die Berechnung der Determinante folgende Gleichung ausgenutzt werden kann:

$$\left| \begin{array}{cc} A & B \\ C & D \end{array} \right| = |AD - BC| \quad (13)$$

Für das charakteristische Polynom des Systems aus zwei Genen folgt damit:

$$(\epsilon + \lambda)^2(1 + \lambda)^2 - \epsilon^2 \tilde{f}_1 p_2 \tilde{f}_2 p_1 = 0. \quad (14)$$

Es muss dabei berücksichtigt werden, dass die normierten Ableitungen der Hill-Funktionen  $\tilde{f}_j p_i$  von allen Original-Parametern  $(m_i, \gamma_i, \omega_i, \delta_i, \theta_i, n_i)$  abhängen. Aus diesem Grund hängt auch das charakteristische Polynom indirekt von allen Original-Parametern ab. Trotzdem kann ausgenutzt werden, dass die Ableitung  $\tilde{f}_j p_i$  eines Aktivators auf das Intervall  $[0, n_i]$  beschränkt ist und die Ableitung für einen Inhibitor auf das Intervall  $[-n_i, 0]$  (siehe Abschnitt 2.3.4). Die Nullstellen des charakteristischen Polynoms (14), und damit die Eigenwerte der Jacobi-Matrix, können für verschiedene Werte und Vorzeichen der Exponent-Parameter  $\tilde{f}_j p_i$  berechnet werden, um damit die lokale Stabilität des Systems zu bestimmen (siehe Abschnitt 2.3.3).

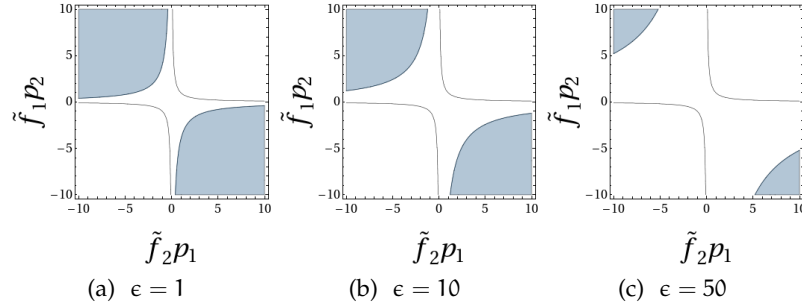
Abbildung 15 zeigt die Linien, an denen die Realteile des größten Eigenwerts verschwinden, d. h. an diesen Bifurkationslinien ändern Fixpunkte ihre Stabilität. Im inneren Teil des Graphen, d. h. für kleine Werte der Ableitungen  $\tilde{f}_j p_i$ , sind die Fixpunkte stabil, während sie auf der äußeren Seite der Bifurkationslinien, d. h. für große Werte der  $\tilde{f}_j p_i$ , instabil sind. Zusätzlich sind die Regionen im generalisierten Parameterraum schattiert dargestellt, in denen ein Fixpunkt instabil gegenüber Oszillationen ist, d. h. in diesen Bereichen hat die Jacobi-Matrix ein komplex konjugiertes Paar an Eigenwerten mit positivem Realteil. Das bedeutet, dass eine Hopf-Bifurkation jeweils an der Grenze zwischen der weißen und blauen Fläche auftritt,



während an der schwarzen Grenzlinie eine Sattelknoten-Bifurkation stattfindet. Es ist zu erkennen, dass eine Sattelknoten-Bifurkation, und damit Multistabilität, nur auftreten kann, wenn die Exponent-Parameter das gleiche Vorzeichen haben, d.h. wenn entweder zwei Aktivatoren, oder zwei Inhibitoren vorliegen. Oszillationen können dagegen nur dann auftreten, wenn die Exponent-Parameter  $\tilde{f}_1 p_2$  und  $\tilde{f}_2 p_1$  unterschiedliche Vorzeichen haben, d.h. wenn ein Aktivator-Inhibitor-Komplex vorliegt. Außerdem muss das Produkt der Hill-Koeffizienten  $n_1$  und  $n_2$  groß genug sein. Für größere Zeitskalen-Verhältnisse  $\epsilon$  zwischen mRNA- und Protein-Dynamik müssen die Exponent-Parameter noch größer sein, um eine Hopf-Bifurkation zu erhalten. Für  $\epsilon = 50$ , wenn die mRNA-Dynamik quasi immer in einem Gleichgewichtszustand ist, zeigt der Aktivator-Inhibitor-Komplex keine Oszillationen für Exponent-Parameter  $\tilde{f}_1 p_2, \tilde{f}_2 p_1 \in \{1, \dots, 4\}$ , was Kooperativitäts-Koeffizienten  $n_i \in \{1, \dots, 4\}$  entspricht, während die Sattelknoten-Bifurkation unabhängig von  $\epsilon$  auftritt.

Mit Hilfe der generalisierten Methode können damit für das bereits gut untersuchte Netzwerk aus zwei Genen (z. B. [101, 102, 83, 84, 103]) bestehende Ergebnisse kombiniert, ergänzt und zusammengefasst werden. Widder et al. [84] und Polynikis et al. [83] haben für das Auftreten von Oszillationen im Fall des Aktivator-Inhibitor Komplexes die Bedingung für die Werte des Hill-Koeffizienten aufgestellt, dass  $n_i \geq 3$  [84], bzw. genauer präzisiert durch [83] als  $n_1 \cdot n_2 > 4$  (Wahl der anderen Parameter:  $\gamma_i = \delta_i = \omega_i = 1, 0$ ). Widder et al. [84] stellen heraus, dass der Bereich des Parameter-raums, der einen Grenzzyklus enthält, bei steigender Kooperativität, also für höhere Werte des Hill-Koeffizienten, wächst und Polynikis et al. [83] haben zudem festgestellt, dass das System durch eine Hopf-Bifurkation geht, wenn die Zeitskalen der mRNA- und Protein-Dynamik variiert werden. Alle diese Ergebnisse finden sich ausgedrückt durch das generalisierte Modell in Abbildung 15 wieder.

Obwohl die generalisierte Methode normierte Variablen nutzt, können die Ergebnisse leicht mit numerischen Simulationen verglichen werden. Abbildung 16 zeigt mRNA und Protein Konzentrationen für verschiedene Werte der  $n_i$  (verschiedene Spalten) mit  $\epsilon = 1$  (erste Zeile) und  $\epsilon = 50$  (zweite Zeile). Wenn die Separation der Zeitskalen zwischen mRNA- und Protein-Dynamik größer wird, steigt



Abbildungung 15: Die blauen Flächen entsprechen den Regionen im Parameterraum Fixpunkt instabil ist, der durch die Exponent-Parameter  $\tilde{f}_1 p_2$  und  $\tilde{f}_2 p_1 \in \{-10, 10\}$  aufgespannt wird, für die der Fixpunkt instabil ist. An den schwarzen Linien findet eine Sattelknoten-Bifurkation statt. Das Verhältnis der Zeitskalen zwischen mRNA- und Protein-Dynamik,  $\epsilon$ , steigt von (a) nach (c).

die Frequenz der Oszillationen, doch ihre Amplitude wird kleiner ( $n_i = 10$ ) oder verschwindet sogar ganz ( $n_i < 10$ ).

Wenn die Dynamik des Booleschen Modells mit der des kontinuierlichen Modells verglichen wird, fällt auf, dass die Oszillationen, die im Booleschen Aktivator-Aktivator- (oder Inhibitor-Inhibitor-) Komplex vorliegen, im kontinuierlichen Modell nicht auftreten. Nur die zwei Fixpunkte, die es auch im Booleschen Modell gibt, sind im kontinuierlichen System zu finden. Die Oszillationen des Booleschen Aktivator-Inhibitor Systems können im kontinuierlichen Modell nur dann auftreten, wenn  $F_1$  und  $F_2$  steil genug sind, damit die Konzentrationen ausreichend schnell die mittleren Konzentrationswerte durchqueren. Sonst würde das System auf den (einzigen) Fixpunkt laufen, der bei mittleren Konzentrationswerten zu finden ist. Ein Grund dafür ist, dass sich die Konzentrationen im kontinuierlichen Modell stetig ändern, selbst im Limit  $n \rightarrow \infty$ , in dem sich die Funktionen  $F_1$  und  $F_2$  Stufenfunktionen annähern. Im Gegensatz dazu kann im Booleschen Modell der Zustand eines Gens instantan von „aus“ (0) nach „an“ (1) und zurück wechseln.

### 3.1 Einfache Feedback-Schleifen

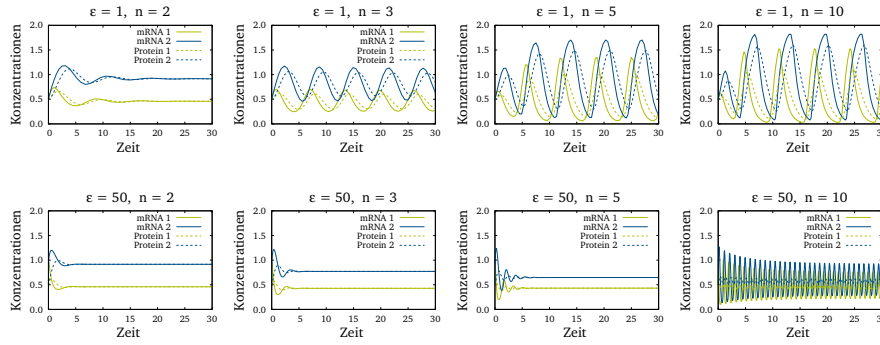
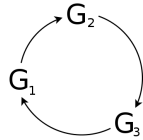


Abbildung 16: mRNA- und Protein-Konzentrationen des Netzwerks aus einem Aktivator und einem Inhibitor für verschiedene Werte von  $n_i$  und  $\epsilon$ . Die Graphen in der ersten Zeile gehören zum Fall  $\epsilon = 1$ , die in der zweiten Zeile zu  $\epsilon = 50$ , d.h. die mRNA-Dynamik läuft 50-mal schneller ab. Die verschiedenen Spalten zeigen Simulationen mit verschiedenen Hill-Koeffizienten  $n_i = 2, 3, 5, 10$ . (Parameterwerte:  $m_i = 2, 0$ ;  $\theta_i = 0, 5$ ;  $\gamma_i = \delta_i = \omega_i = 1, 0$ )

#### 3.1.2 Netzwerke aus drei Genen



Auch die einfache Feedback-Schleife aus drei Genen kann darin unterschieden werden, wie viele Inhibitoren sie enthält: Es kann entweder eine gerade Anzahl (null oder zwei), oder eine ungerade Anzahl (eins oder drei) an inhibierenden Genen vorliegen. Da zwei Inhibitoren den gleichen Effekt wie zwei Aktivatoren haben, entspricht die Dynamik einer Schleife mit z. B. zwei Inhibitoren und einem Aktivator der Dynamik eines Systems, das ausschließlich Aktivatoren enthält. Dies konnte bereits für das System aus zwei Genen beobachtet werden, wo der Zustandsraum sowohl für zwei Aktivatoren, als auch für zwei Inhibitoren jeweils zwei Fixpunkte und einen Zyklus aufweist. Eine Schleife mit einer geraden Anzahl an Inhibitoren wird im Folgenden als *gerade* oder *positive* Schleife bezeichnet. Ein Ring mit einer ungeraden Anzahl an Inhibitoren entspricht einem System, das neben den Aktivatoren einen Inhibitor enthält. Diese Schleifen werden im Folgenden als *ungerade* oder *negative* Schleifen bezeichnet.

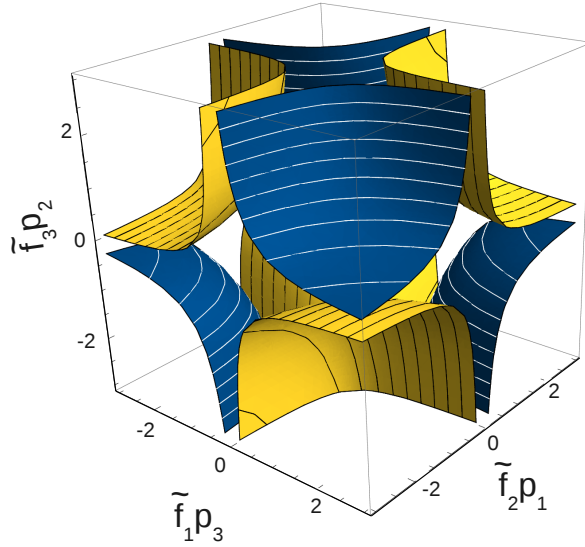


Abbildung 17: Bifurkationsflächen einer einfachen Feedback-Schleife aus drei Genen. Die gelben Flächen gehören zu geraden Schleifen, und blaue Flächen zu ungeraden.

Im Booleschen Modell hat eine positive Schleife aus drei Genen zwei Zyklen der Länge drei und zwei Fixpunkte. Eine negative Feedback-Schleife hat einen Zyklus der Länge sechs und einen weiteren Zyklus der Länge zwei.

Für das kontinuierliche Modell können analog zum System aus nur zwei Genen die Jacobi-Matrix und daraus das charakteristische Polynom des generalisierten Modells aufgestellt werden:

$$(\epsilon + \lambda)^3(1 + \lambda)^3 - \epsilon^3 \tilde{f}_1 p_3 \cdot \tilde{f}_2 p_1 \cdot \tilde{f}_3 p_2 = 0 \quad (15)$$

Die Nullstellen des charakteristischen Polynoms (15) werden erneut für verschiedene Werte und Vorzeichen der Exponent-Parameter  $\tilde{f}_j p_i$  bestimmt. Abbildung 17 zeigt die Flächen, an denen die Realteile des größten Eigenwerts verschwinden für ein Netzwerk mit drei Genen und  $\epsilon = 1$ . An diesen Bifurkationsflächen ändern Fixpunkte ihre Stabilität. Im inneren Teil des Graphen, d. h. für kleine Werte der Ableitungen  $\tilde{f}_j p_i$ , sind die Fixpunkte stabil, während sie auf der äußeren Seite der Bifurkationsflächen, d. h. für große Werte der  $\tilde{f}_j p_i$ , instabil sind. Die generalisierten Ableitungen kommen im charakteristischen Polynom als Produkt  $\tilde{f}_1 p_3 \cdot \tilde{f}_2 p_1 \cdot \tilde{f}_3 p_2$  vor. Aus diesem Grund hängen die Bifurkationsflächen vom Betrag und dem Vorzeichen dieses Pro-

dukts ab und weder die Reihenfolge der Exponent-Parameter, noch die exakte Anzahl der Inhibitoren ist ausschlaggebend. Die Bifurkationsflächen aller geraden Schleifen sind untereinander identisch, genauso wie die aller ungeraden Schleifen. In Oktanden mit geraden Schleifen (d. h. solchen mit einer gerade Anzahl an Inhibitoren) sind die Oberflächen gelb markiert, und blaue Flächen gehören zu ungeraden Schleifen (ungerade Anzahl an Inhibitoren). Das Produkt  $\tilde{f}_{1\dots 3} \equiv \tilde{f}_1 p_3 \cdot \tilde{f}_2 p_1 \cdot \tilde{f}_3 p_2$  soll im Folgenden als neue Variable genutzt werden. Ein positiver Wert von  $\tilde{f}_{1\dots 3}$  entspricht einer geraden Schleife, während ein negatives  $\tilde{f}_{1\dots 3}$  einer ungeraden Schleife entspricht. Anhand des charakteristischen Polynoms (15) des generalisierten Modells kann allgemein gezeigt werden, dass gerade Schleifen nur durch Sattelknoten-Bifurkation gehen können, und ungerade Schleifen nur durch Hopf-Bifurkationen: Eine Sattelknoten-Bifurkation kann dadurch identifiziert werden, dass die Determinante der Jacobi-Matrix am Bifurkationspunkt verschwindet, d. h. die Jacobi-Matrix am Fixpunkt hat einen Eigenwert  $\lambda_S = 0$ . Dies führt zu der Bedingung

$$\begin{aligned} (\epsilon + \lambda_S)^3 (1 + \lambda_S)^3 &= \epsilon^3 \tilde{f}_{1\dots 3}, \\ 1 &= \tilde{f}_{1\dots 3}. \end{aligned} \quad (16)$$

Ein Fixpunkt ist stabil für  $\tilde{f}_{1\dots 3} < 1$  und instabil für  $\tilde{f}_{1\dots 3} > 1$ , unabhängig vom Verhältnis der Zeitskalen  $\epsilon$  zwischen mRNA- und Protein-Dynamik. Da Gleichung (16) nur durch positive Werte von  $\tilde{f}_{1\dots 3}$  erfüllt werden kann, kann eine Sattelknoten-Bifurkationen nur in geraden Schleifen auftreten. Das kontinuierliche System einer geraden Feedback-Schleife kann also durch eine Bifurkation von einem zu zwei stabilen Fixpunkten übergehen, wenn ein Kontrollparameter variiert wird [104, 105]. Auch generell ist die Existenz von mehr als einem Fixpunkt in einem Genregulationsnetzwerk nur möglich, wenn eine positive Feedback-Schleife vorliegt [106].

Eine Hopf-Bifurkation, die einen Übergang von stationärer zu periodischer Bewegung beschreibt, ist charakterisiert durch das Auftreten von zwei rein imaginären Eigenwerten der Jacobi-Matrix,  $\lambda_H = \pm i\omega$ :

$$\begin{aligned} (\epsilon + \lambda_H)^3 (1 + \lambda_H)^3 &= \tilde{f}_{1\dots 3} \epsilon^3, \\ (\epsilon \pm i\omega)^3 (1 \pm i\omega)^3 &= \tilde{f}_{1\dots 3} \epsilon^3. \end{aligned}$$

Diese analytische Bedingung hängt vom Verhältnis der Zeitskalen  $\epsilon$  ab und kann sowohl durch negative als auch durch positive Werte

des Produkts  $\tilde{f}_{1\dots 3}$  erfüllt werden, d.h. sowohl für gerade, als auch für ungerade Schleifen. Wenn der Absolutbetrag beider Seiten der Gleichung betrachtet wird, gilt:

$$\frac{(\epsilon^2 + \omega^2)^{N/2}}{\epsilon^3} (1 + \omega^2)^{3/2} = |\tilde{f}_{1\dots 3}|. \quad (17)$$

Die linke Seite dieser Gleichung ist größer als 1 (für  $\epsilon \geq 1$ ). Um zu zeigen, dass für gerade Schleifen keine Hopf-Bifurkation stattfinden kann, soll nun angenommen werden, dass ein stabiler Fixpunkt einer geraden Schleife vorliegt, für den gilt, dass  $0 < \tilde{f}_{1\dots 3} < 1$ . Durch Variation der Parameter im Original-Modell kann der Betrag des Produkts  $\tilde{f}_{1\dots 3}$  steigen, bis bei  $\tilde{f}_{1\dots 3} = 1$  nach Gleichung (16) eine Sattelknoten-Bifurkation auftritt, wodurch der betrachtete Fixpunkt instabil wird. Die analytische Bedingung für eine Hopf-Bifurkation (17) ist nur für noch größere Beträge des Produkts  $\tilde{f}_{1\dots 3}$  erfüllt, d.h. erst wenn eine Sattelknoten-Bifurkation bereits stattgefunden hat und der Fixpunkt instabil geworden ist. Aus diesem Grund kann eine superkritische Hopf-Bifurkation, bei der ein stabiler Gleichgewichtszustand instabil wird und die Dynamik des Systems auf einen Zyklus läuft, der in der Nähe des Fixpunkts entstanden ist, in geraden Netzwerken nicht auftreten. In ungeraden Feedback-Schleifen dagegen kann nach Gleichung (16) keine Sattelknoten-Bifurkation stattfinden, so dass Oszillationen durch eine Hopf-Bifurkation entstehen können.

Wenn das Zeitskalenverhältnis  $\epsilon$  zwischen mRNA- und Protein-Dynamik erhöht wird, führt dies zu einer Erhöhung des Betrags von  $\tilde{f}_{1\dots 3}$ , der gebraucht wird, um eine Hopf-Bifurkation zu erzeugen. Das bedeutet, dass ein größerer Hill-Koeffizient benötigt wird, um Oszillationen zu erhalten, wenn die mRNA-Dynamik schneller abläuft. Dies konnte bereits für das System aus zwei Genen beobachtet werden (siehe Abbildung 15).

Im Gegensatz zum Booleschen Modell können im kontinuierlichen Modell nur dann Oszillationen auftreten, wenn eine ungerade Schleife vorliegt, d.h. wenn entweder eine oder drei der Kanten eine inhibierende Wirkung haben. Von den beiden Zyklen, die im Booleschen Modell für die ungerade Schleife vorliegen, wird im kontinuierlichen Modell gerade der Zyklus realisiert, der aus sechs der

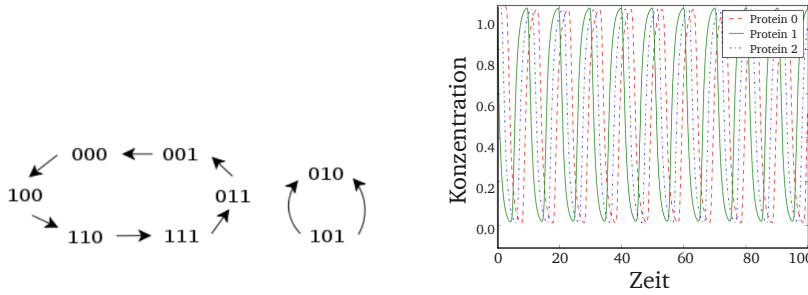
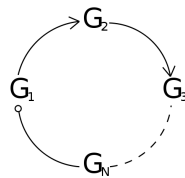


Abbildung 18: Boolescher Zustandsraum und kontinuierliche Oszillationen für eine Schleife aus drei Genen, in der zwei Knoten als Aktivator wirken und ein Knoten als Inhibitor.

acht Netzwerkzustände besteht. Abbildung 18 zeigt den Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik. Wenn die kontinuierlichen Oszillationen in Boolesche Zustände übersetzt werden, indem die Konzentration eines Knotens als „1“ angenommen wird, sobald sie oberhalb des Schwellwerts  $\theta$  ist, und „0“, wenn sie kleiner als  $\theta$  ist, entsprechen die gezeigten Oszillationen der Zustandsabfolge 011, 001, 000, 100, 110, 111. Diese stimmt exakt mit dem Booleschen Zyklus der ungeraden Feedback-Schleife mit einem Inhibitor überein.

### 3.1.3 Verallgemeinerung auf $N$ Gene



Die Ergebnisse des Vergleichs der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik für einfache Feedback-Schleifen sollen im Folgenden auf Systeme aus  $N$  Genen verallgemeinert werden. Auch für ein System aus  $N$  Knoten kann unterschieden werden, ob eine gerade oder ungerade Anzahl an Inhibitoren in der Schleife vorliegt.

Für eine gerade Feedback-Schleife aus  $N$  Genen kehrt das Boolesche Modell nach  $N$  Aktualisierungen zum selben Zustand zurück, während ungerade Schleifen nach  $2N$  Zeitschritten zum selben Zustand zurückkehren [107]. Aus diesem Grund können die Zyklen des Booleschen Systems nicht länger als  $N$  (gerade Schleifen) oder  $2N$  (ungerade Schleifen) sein. Gerade Schleifen haben zwei Fixpunkte zusätzlich zu Zyklen, und ungerade Schleifen haben einen

Zyklus der Länge zwei zusätzlich zu längeren Zyklen.

Für das kontinuierliche Modell muss die Jacobi-Matrix auf  $N$  Knoten generalisiert werden. Für das charakteristische Polynom folgt damit

$$(\epsilon + \lambda)^N (1 + \lambda)^N - \epsilon^N \tilde{f}_1 p_N \prod_{i=2}^N \tilde{f}_i p_{i-1} = 0. \quad (18)$$

Wie für das kleinere System aus nur drei Knoten, hängt das Auftreten der Bifurkationen nicht von den einzelnen Exponent-Parametern, sondern vom Produkt  $\tilde{f}_1 p_N \prod_{i=2}^N \tilde{f}_i p_{i-1} \equiv \tilde{f}_{1\dots N}$  ab, so dass im Folgenden  $\tilde{f}_{1\dots N}$  als neue Variable genutzt wird. Ein positiver Wert von  $\tilde{f}_{1\dots N}$  entspricht einer geraden Schleife, und ein negatives  $\tilde{f}_{1\dots N}$  beschreibt eine ungerade Schleife der Länge  $N$ .

Bei einer Sattelknoten-Bifurkation verschwindet die Determinante der Jacobi-Matrix am Bifurkationspunkt, d. h. die Jacobi-Matrix hat einen Eigenwert  $\lambda_S = 0$ . Dies führt mit Hilfe des charakteristischen Polynoms (18) zu der Bedingung

$$\begin{aligned} (\epsilon + \lambda_S)^N (1 + \lambda_S)^N &= \epsilon^N \tilde{f}_{1\dots N}, \\ 1 &= \tilde{f}_{1\dots N}. \end{aligned} \quad (19)$$

Analog zum System aus drei Knoten ist ein Fixpunkt stabil für  $\tilde{f}_{1\dots N} < 1$  und instabil für  $\tilde{f}_{1\dots N} > 1$ , unabhängig vom Verhältnis der Zeitskalen  $\epsilon$  zwischen mRNA- und Protein-Dynamik. Da Bedingung (19) nur durch positive Werte von  $\tilde{f}_{1\dots N}$  erfüllt werden kann, kann auch für Systeme mit  $N$  Knoten eine Sattelknoten-Bifurkation nur in geraden Feedback-Schleifen auftreten.

Bei einer Hopf-Bifurkation liegen zwei rein imaginäre Eigenwerte  $\lambda_H = \pm i\omega$  vor:

$$\begin{aligned} (\epsilon + \lambda_H)^N (1 + \lambda_H)^N &= \tilde{f}_{1\dots N} \epsilon^N, \\ (\epsilon \pm i\omega)^N (1 \pm i\omega)^N &= \tilde{f}_{1\dots N} \epsilon^N. \end{aligned}$$

Diese analytische Bedingung kann auch für Systeme mit  $N$  Knoten sowohl durch negative als auch durch positive Werte des Produkts  $\tilde{f}_{1\dots N}$  erfüllt werden. Für den Absolutbetrag beider Seiten der Gleichung gilt:



$$\frac{(\epsilon^2 + \omega^2)^{N/2}}{\epsilon^N} (1 + \omega^2)^{N/2} = |\tilde{f}_{1\dots N}|. \quad (20)$$

Analog zu dem System aus drei Genen zeigt sich, dass eine Hopf-Bifurkation für gerade Schleifen nur dann auftreten kann, wenn eine Sattelknoten-Bifurkation bereits stattgefunden hat, so dass kein Übergang von einem stabilen Fixpunkt zu Oszillationen möglich ist. Für ungerade Schleifen beliebiger Länge findet dagegen keine Sattelknoten-Bifurkation statt, so dass periodisches Verhalten nach dem Durchqueren einer Hopf-Bifurkation möglich ist. Schon 1976 wurde beobachtet, dass die Dynamik einfacher Schleifen mit kontinuierlicher Dynamik entweder Bistabilität oder Oszillationen aufweisen kann [108]. Angeli [105] und Pigolotti [109] konnten zeigen, dass positive Feedback-Schleifen durch eine Sattelknoten-Bifurkation gehen können, was zu Bistabilität führt [105], und negative Feedback-Schleifen können eine Hopf-Bifurkation aufweisen, wodurch es zu Oszillationen kommen kann [109], aber nicht anderes herum. Dies stimmt mit den hier gezeigten Ergebnissen des generalisierten Modells überein.

Für Netzwerke mit  $N > 3$  können im Booleschen Modell mehrere verschiedene Zyklen der Länge  $2N$  auftreten. Einer dieser Zyklen weist ausschließlich aufeinanderfolgende Netzwerkzustände auf, die sich jeweils im Zustand nur eines Knotens unterscheiden, wenn die typische parallele Aktualisierung der Knoten genutzt wird. Der Zyklus besteht also nur aus Zuständen mit Hamming-Abstand  $h = 1$  (siehe Abschnitt 2.4.3) und ist besonders robust gegenüber Fluktuationen in der Zeit bis die Knoten aktualisiert werden [110]. Genau dieser Zyklus des Booleschen Modells ist es, der im kontinuierlichen Modell als Oszillation auftritt (siehe Abb. 19 für ein Netzwerk mit  $N = 10$ ). Es kann deshalb gefolgert werden, dass für einfache Schleifen nur solche Zyklen des Booleschen Modells in der kontinuierlichen Version auftreten, die robust gegenüber Fluktuationen in der Zeit sind, zu der die Knoten aktualisiert werden. Für gerade Schleifen haben nur die beiden Fixpunkte diese Eigenschaft.

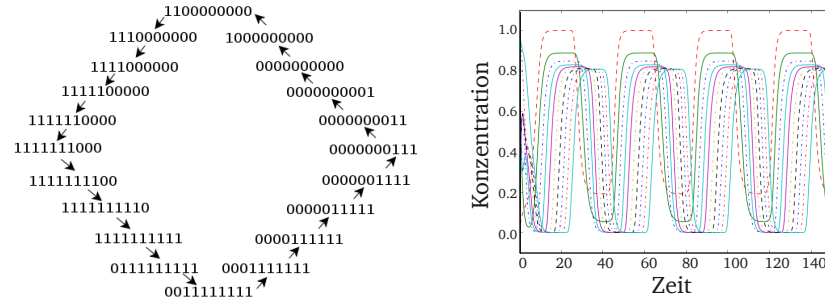


Abbildung 19: Boolescher Zyklus und kontinuierliche Oszillationen für eine ungerade Feedback-Schleife mit  $N = 10$  Genen, in der neun Knoten als Aktivatoren wirken und ein Knoten als Inhibitor.

### 3.1.4 Ergebnisse der einfachen Feedback-Schleifen

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine Feedback-Schleife mit einer geraden Anzahl an Inhibitoren nur eine Sattelnoden-Bifurkation hervorbringen kann, jedoch keine Hopf-Bifurkation. Dementsprechend treten die Zyklen, die im Booleschen Modell für das System einer geraden Schleife gefunden werden, im kontinuierlichen Modell nicht auf. Für Schleifen mit einer ungeraden Anzahl an Inhibitoren dagegen kann eine Hopf-Bifurkation stattfinden, so dass auch im kontinuierlichen System Oszillationen zu beobachten sind.

Durch die generalisierte Methode können für das kontinuierliche Modell die auftretenden Bifurkationen untersucht werden, ohne spezifisches Wissen über Funktionen, Parameter und Fixpunktkonzentrationen zu haben. Die exakten Werte der Fixpunktkonzentrationen, die selbst wiederum von anderen Parametern des Systems abhängen, bestimmen die Werte der Ableitungen  $\tilde{f}_j p_i$ , doch der Wertebereich und die Vorzeichen der Exponent-Parameter werden allein durch die Art der Regulation (Aktivierung oder Inhibierung) und die Hill-Koeffizienten bestimmt (siehe Abschnitt 2.3.4). Dadurch sind die Ergebnisse der Untersuchung mit Hilfe der generalisierten Methode sehr allgemein und nicht auf spezielle Parameterwerte beschränkt.

Die Boolesche Dynamik zeigt für eine ungerade Schleife mehrere Zyklen, wobei sich für einen Zyklus die verschiedenen aufeinanderfolgenden Netzwerkzustände jeweils nur im Wert genau eines Knotens unterscheiden. Das bedeutet, in diesem Zyklus haben die Netzwerkzustände einen Hamming-Abstand  $h = 1$  und er ist robust gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge der Kno-

ten. Wenn im kontinuierlichen Modell der Hill-Koeffizient  $n$  groß genug ist, ist es genau dieser Zyklus, der auch hier als Oszillationen der Konzentrationen auftritt, da im kontinuierlichen Modell nicht mehr als ein Knoten pro Zeitintervall seinen Schwellwert überschreiten kann. Für gerade Feedback-Schleifen sind die Booleschen Zyklen nicht robust gegenüber Änderungen in der Aktualisierungsreihenfolge der Knoten, so dass die kontinuierliche Dynamik dieser Schleifen auf einen der beiden Fixpunkte des Booleschen Modells läuft.

## 3.2 GEKOPPELTE FEEDBACK-SCHLEIFEN

Gekoppelte Feedback-Schleifen enthalten im Gegensatz zu einfachen Feedback-Schleifen eine zusätzliche Kante, die entweder eine Selbstregulation eines Knotens, oder eine zusätzliche Regulation eines Knotens durch einen anderen, zweiten Knoten sein kann. Durch diese Kopplung zweier Feedback-Schleifen kann die Stabilität der gewünschten Dynamik erhöht werden, die gleichzeitige Existenz eines stabilen Fixpunktes und eines stabilen Grenzzyklus kann aufrechterhalten werden [111], oder signalverstärkende Eigenschaften können verbessert werden [43, 112]. Aus diesem Grund spielen Feedback-Schleifen beispielsweise für die zelluläre Signalübertragung eine wichtige Rolle [113].

## 3.2.1 Netzwerke aus zwei Genen



Bei einem Netzwerk aus zwei Genen ist die zusätzliche Verknüpfung der Feedback-Schleife eine Selbstregulation eines der Knoten.

Für das kontinuierliche Modell der gekoppelten Feedback-Schleife wird analog zu dem System der einfachen Feedback-Schleife anhand des charakteristischen Polynoms des generalisierten Modells die lokale Dynamik bestimmt. Der Parameterraum wird nun durch die drei Exponent-Parameter  $\tilde{f}_1 p_1$ ,  $\tilde{f}_1 p_2$  und  $\tilde{f}_2 p_1$  aufgespannt, die den drei Kanten des Netzwerks zugeordnet werden können. Abbildung 20 zeigt die Regionen im Parameterraum, in denen Oszillationen möglich sind. Diese Regionen können anhand der Eigenwerte der Jacobi-Matrix bestimmt werden. Genau wie für den einfachen Aktivator-Inhibitor Komplex aus zwei Genen, müssen  $\tilde{f}_1 p_2$  und  $\tilde{f}_2 p_1$  unterschiedliche Vorzeichen haben, damit eine Hopf-Bifurkation stattfinden kann, d.h. die beiden Knoten müssen sich gegenseitig mit gegensätzlichen regulatorischen Funktionen beeinflussen. Die zusätzliche Selbstregulation von Gen 1 kann für  $\epsilon = 1$  aktivierend oder inhibierend sein, doch um bei größeren Zeitskalen-Verhältnissen (z.B.  $\epsilon = 50$ ) Oszillationen zu erhalten, muss Gen 1 aktivierend auf sich selbst wirken, d.h.  $\tilde{f}_1 p_1 > 0$ . Größere Werte der Exponent-Parameter und damit der Hill-Koeffizienten

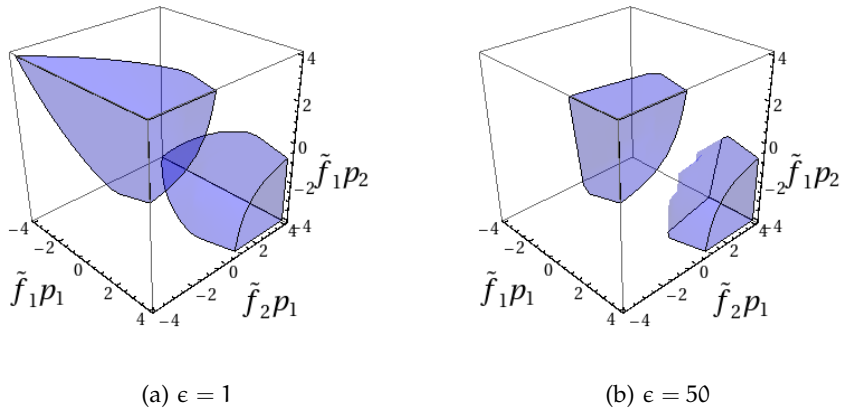


Abbildung 20: Regionen im Parameterraum des Systems der gekoppelten Feedback-Schleife aus zwei Genen, in denen der Fixpunkt instabil gegenüber Oszillationen ist. Das Verhältnis der Zeitskalen zwischen mRNA- und Protein-Dynamik,  $\epsilon$ , steigt von (a) nach (b).

$n_i$  können ein größeres Zeitskalen-Verhältnis zwischen mRNA- und Protein-Dynamik kompensieren, genau wie im System ohne zusätzliche Selbstregulation.

Im Booleschen Modell hängt die Dynamik des Systems ebenfalls von der jeweiligen Funktion des Gens ab, das zwei Eingangsknoten hat. Da konstante Funktionen und kanalisierende Funktionen vom Typ  $\mathcal{C}_1$  nicht auf die Zustandsänderung beider Knoten reagieren (siehe Abschnitt 2.4.1), hängen von den 16 möglichen Booleschen Funktionen für  $F_1(P_1, P_2)$  nur zehn Funktionen wirklich von beiden Variablen ab. Diese zehn Funktionen werden im Folgenden diskutiert.

Um das kontinuierliche Modell mit dem Booleschen Modell zu vergleichen, sollen die Regulationsfunktionen  $F_1$  und  $F_2$  HillCubes [89] sein (siehe Abschnitt 2.3.2). Dabei wird nur der Fall betrachtet, dass Gen 2 durch Gen 1 aktiviert wird, d. h.  $\tilde{f}_2 p_1 > 0$ . In Abbildung 21 ist dazu ein Querschnitt von Abbildung 20a bei  $\tilde{f}_2 p_1 = 3,0$  gezeigt. Der Fall, dass Gen 2 durch Gen 1 inhibiert wird, kann durch Invertieren der Zustände der beiden Knoten und durch Vorzeichenwechsel der entsprechenden Verbindungen auf den ersten Fall abgebildet werden.

Die Booleschen Funktionen  $G_1 \text{ AND } G_2$  und  $G_1 \text{ OR } G_2$  führen im Booleschen Modell zu zwei Fixpunkten: 00 und 11. Wenn HillCubes genutzt werden, gilt für die normierten Ableitungen  $\tilde{f}_1 p_1 > 0$  und

AND / OR  
Übereinstimmung

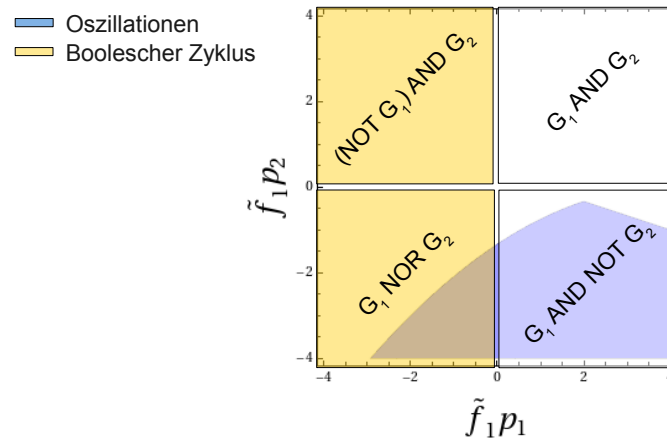


Abbildung 21: Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik der gekoppelten Feedback-Schleife aus zwei Genen.

$\tilde{f}_1 p_2 > 0$ . Anhand Abbildung 21 ist zu erkennen, dass auch für das kontinuierliche Modell für diesen Fall keine Oszillationen durch eine Hopf-Bifurkation auftreten können. Ob ein oder zwei stabile Fixpunkte vorliegen, hängt von den Parameterwerten ab. Dieses Modul verhält sich damit sehr ähnlich zur einfachen positiven Feedback-Schleife, zeigt jedoch eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik.

NOT AND /  
NOT OR  
keine  
Übereinstimmung

Die Booleschen Funktionen NOT  $G_1$  AND  $G_2$  und NOT  $G_1$  OR  $G_2$  führen im Booleschen Modell zu einem Fixpunkt (00 bzw. 11) und einem Zyklus aus den Zuständen 01 und 10. Für die Ableitungen der HillCubes im kontinuierlichen Modell gilt  $\tilde{f}_1 p_1 < 0$  und  $\tilde{f}_1 p_2 > 0$ . Damit hat dieses System im kontinuierlichen Modell nach Abbildung 21 keine Hopf-Bifurkation. Genau wie im einfachen Aktivator-Aktivator-Komplex tritt der Zyklus, der im Booleschen Modell vorliegt, im kontinuierlichen System nicht auf.

AND NOT /  
OR NOT  
keine  
Übereinstimmung

Die Funktionen  $G_1$  AND NOT  $G_2$  und  $G_1$  OR NOT  $G_2$  führen im Booleschen Modell zu einem Fixpunkt (00 bzw. 11), der ein globaler Attraktor ist. Mit HillCubes sind die normierten Ableitungen des kontinuierlichen Modells  $\tilde{f}_1 p_1 > 0$  und  $\tilde{f}_1 p_2 < 0$ , d.h. die Vorzeichen der Exponent-Parameter sind so, dass eine Hopf-Bifurkation möglich ist. Verglichen mit dem Aktivator-Inhibitor-Modul mit nur zwei Verknüpfungen, vergrößert die aktivierende Selbstregulation  $\tilde{f}_1 p_1 > 0$  die Region des Parameterraums, in der Oszillationen möglich sind. Dies zeigt Abbildung 21 für das Beispiel  $\tilde{f}_2 p_1 = 3,0$ : die schattierte

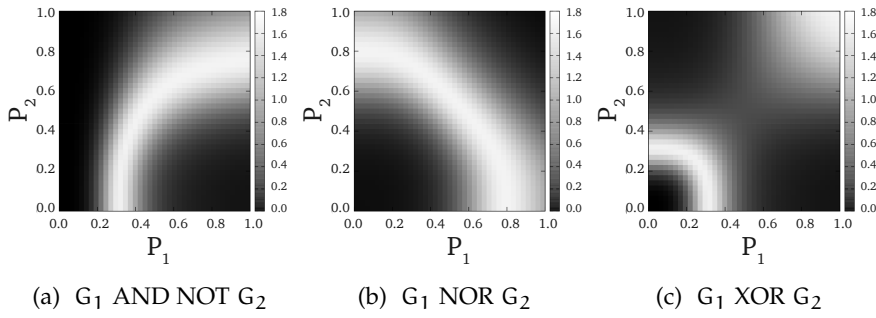


Abbildung 22: Projektion der zweidimensionalen Aktualisierungsfunktionen  $F = G_1$  AND NOT  $G_2$ ,  $F = G_1$  NOR  $G_2$  und  $F = G_1$  XOR  $G_2$  mit  $\theta_i = 0,5$  und  $n_i = 3$ . Die hell schattierten Bereiche markieren solche Regionen im Parameterraum, in denen  $F_2(P_1)$  aufgrund mittlerer Werte der mRNA-1-Konzentration sehr steil ist.

Region des kontinuierlichen Modells ist größer für  $\tilde{f}_1 p_1 > 0$  als für  $\tilde{f}_1 p_1 = 0$ . Eine optimale Bedingung für eine Hopf-Bifurkation ist für mittlere Werte der mRNA-Konzentration gegeben, da die Funktion  $F_2$  für diesen Bereich sehr steil ist. Abbildung 22 zeigt weiß schattiert solche Bereiche, in denen  $F_2(P_1)$  steil ist, abhängig von den Konzentrationen der Proteine für die Funktionen  $G_1$  AND NOT  $G_2$  und zwei weitere Funktionen, die im Verlauf dieses Kapitels diskutiert werden.

Um die Regionen im Parameterraum zu bestimmen, die das System der gekoppelten Feedback-Schleife aus zwei Genen mit der Funktion  $G_1$  AND NOT  $G_2$  in den Bereich der Hopf-Bifurkation in Abbildung 21 bringen, wurden die Parameter  $n$ ,  $\theta$  und  $\epsilon$  bei festen Fixpunktkonzentrationen  $P_1^*$  und  $P_2^*$  variiert. Die Werte von  $P_1^*$  und  $P_2^*$  wurden dabei so gewählt, dass sich das System im hell-schattierten Bereich von Abbildung 22 befindet, in dem Oszillationen am wahrscheinlichsten sind. Abbildung 23 zeigt die Ergebnisse der Untersuchung und numerische Simulationen sind in Abbildung 24 zu sehen. Obwohl ein Fixpunkt mit einem Paar an komplexen instabilen Eigenwerten existiert, zeigen die Simulationen, dass das System keine stabilen Oszillationen aufweisen muss. Bei Variation von  $\theta$  geht das System durch eine Hopf-Bifurkation und zeigt einen stabilen Grenzzyklus, dessen Amplitude größer wird, wenn der Schwellwert kleiner wird. Für  $\theta = 0,34$  verschwinden die Oszillationen jedoch durch eine Sattelknoten-Bifurkation von Grenzzyklen: Die Amplitude der Oszillation wächst an, ohne einen stabilen Attraktor zu erreichen und die Trajektorie landet schließlich auf einem Fixpunkt bei 0.

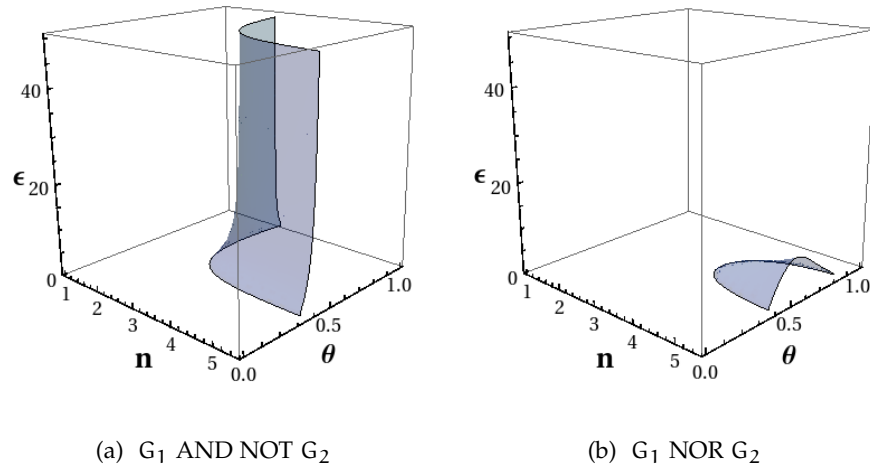


Abbildung 23: Hopf-Bifurkationsflächen der gekoppelte Feedback-Schleife mit Funktionen  $G_1$  AND NOT  $G_2$  und  $G_1$  NOR  $G_2$ . Innerhalb der Oberflächen hat der Fixpunkt ein komplex konjugiertes Paar instabiler Eigenwerte, während die beiden anderen Eigenwerte stabil sind. Für generalisierte Funktionen  $\tilde{f}$  von  $F = G_1$  AND NOT  $G_2$  bei Fixpunktkonzentrationen  $P_1^* = P_2^* = 0,5$  und  $F = G_1$  NOR  $G_2$  bei  $P_1^* = 0,4, P_2^* = 0,6$  werden  $n$ ,  $\theta$  und  $\epsilon$  variiert. Die Wahl von  $P_1^*$  und  $P_2^*$  erfolgt dabei anhand Abbildung 22, um in einer Region des Parameterraums zu sein, in der Oszillationen wahrscheinlich sind.

Das System aus zwei Genen mit drei Verknüpfungen und  $\tilde{f}_1 p_1 > 0$ ,  $\tilde{f}_1 p_2 < 0$  und  $\tilde{f}_2 p_1 > 0$  wurde bereits von Del Vecchio [114] und Guantes und Poyatos [115] untersucht. Del Vecchio hat dafür eine extensive Bifurkations-Analyse durchgeführt und sub- und superkritische Hopf-Bifurkationen und Sattelknoten-Bifurkationen von Grenzzyklen beobachten können. Sie konnte zeigen, dass die Oszillationen in einem breiteren Bereich des Parameterraums auftreten, wenn die mRNA-Dynamik langsamer abläuft. Dieses Ergebnis ist in unseren generalisierten Ergebnissen enthalten, die in Abbildung 20 gezeigt sind. Guantes und Poyatos [115] haben den Fall unendlich schneller mRNA-Dynamik betrachtet, aber verschiedene Zeitskalen für die Dynamiken des Aktivators und Inhibitors erlaubt. Sie konnten damit Oszillationen in einem größeren Bereich des Parameterraums finden, mit Grenzzyklen, die durch eine subkritische Hopf-Bifurkation gehen, sowie Sattelknoten-Bifurkationen von Grenzzyklen.

NOR / NAND  
qualitative  
Übereinstimmung

Die Funktionen  $G_1$  NOR  $G_2$  und  $G_1$  NAND  $G_2$  führen im Booleschen Modell auf einen Zyklus, der ein globaler Attraktor ist. Für



### 3.2 Gekoppelte Feedback-Schleifen

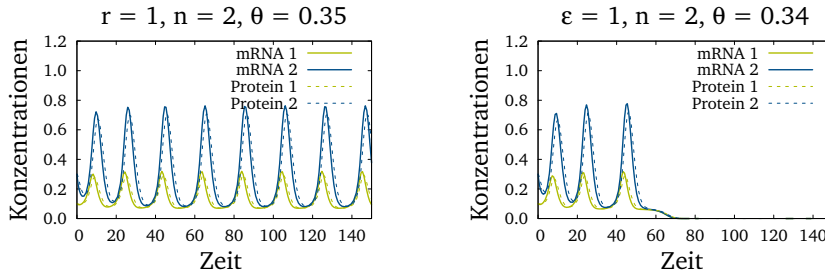
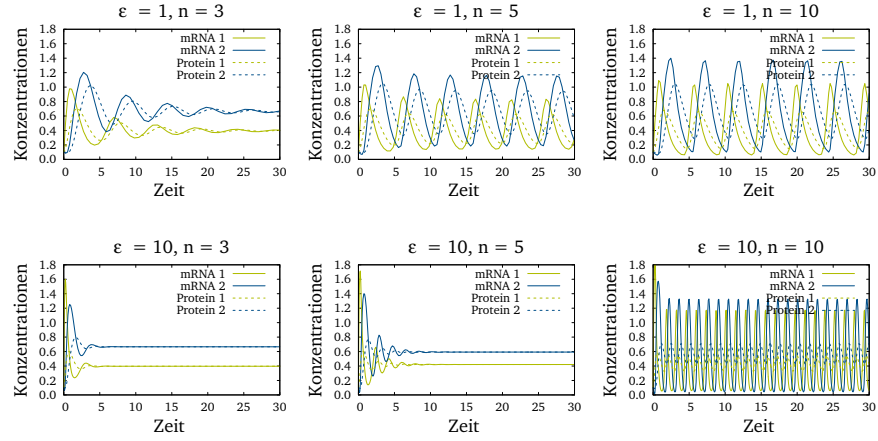


Abbildung 24: mRNA- und Protein-Konzentrationen des Moduls aus zwei Genen mit zusätzlicher Selbstregulation und  $F_1 = G_1 \text{ AND NOT } G_2$  mit  $n_i = 2$  und  $\epsilon = 1$ . Für  $\theta_i = 0,35$  treten stabile Oszillationen auf, doch für  $\theta_i = 0,34$  verschwindet der Grenzzyklus, die Amplitude der Oszillation wächst und die Trajektorie erreicht den Fixpunkt 0. (Parameterwerte:  $m_i = 2,0$ ;  $\gamma_i = \delta_i = \omega_i = 1,0$ )

die normierten Ableitungen der HillCubes dieser Funktionen gilt  $\tilde{f}_{1p_1} < 0$  und  $\tilde{f}_{1p_2} < 0$ . Die Vorzeichen der Exponent-Parameter sind damit so, dass eine Hopf-Bifurkation möglich ist (siehe Abbildung 21). Die Projektion der Funktion auf eine zweidimensionale Fläche und die Bifurkationsflächen in Abhängigkeit von  $n$ ,  $\theta$  und  $\epsilon$  sind in Abbildung 22 und Abbildung 23 gezeigt. Im Gegensatz zum vorherigen Fall ist der Parameterbereich von  $n$ ,  $\theta$  und  $\epsilon$ , in dem Oszillationen möglich sind, wesentlich kleiner. Die Ergebnisse wurden mit numerischen Simulationen verglichen, die in Abbildung 25 zu sehen sind. Oszillationen treten nur dann auf, wenn die mRNA-Dynamik genügend langsam abläuft und der Hill-Koeffizient ausreichend groß ist.

Schließlich werden noch die Funktionen  $G_1 \text{ XOR } G_2$  und  $G_1 \text{ XNOR } G_2$  betrachtet. Im Gegensatz zu den bisherigen Funktionen sind diese nicht kanalisierend, sondern ändern ihren Ausgabewert immer dann, wenn einer der Eingangsknoten den Zustand wechselt. Sie gehören damit zu den reversiblen Funktionen (siehe Abschnitt 2.4.1). Im Booleschen Modell führen diese Funktionen zu einem Fixpunkt und einem Zyklus, der die verbleibenden Zustände enthält. Die Vorzeichen der Ableitungen  $\tilde{f}_{1p_2}$  und  $\tilde{f}_{1p_1}$  im kontinuierlichen Modell können je nach Parameterwerten entweder positiv oder negativ sein. Oszillationen sind damit generell möglich. Anhand Abbildung 22 wurden Fixpunktkonzentrationen gewählt, für die Oszillationen wahrscheinlich sind, doch im Gegensatz zu den zwei bisher diskutierten Funktionssätzen konnten keine Parameterwerte von  $n$ ,  $\theta$  und  $\epsilon$  gefunden werden, für die eine Hopf-Bifurkation

*XOR / XNOR  
keine  
Übereinstimmung*



Abbildungung 25: mRNA- und Protein-Konzentrationen des Moduls aus zwei Genen mit zusätzlicher Selbstregulation und  $F_1 = G_1 \text{ NOR } G_2$ , für verschiedene Werte von  $n_i$  und  $\epsilon$ . Für die Graphen in der ersten Zeile gilt  $\epsilon = 1$ , für die in der zweiten Zeile  $\epsilon = 10$ , d.h. die mRNA-Dynamik läuft zehnmal schneller ab. Die verschiedenen Spalten stehen für verschiedene Werte der Hill-Koeffizienten:  $n = 3, 5, 10$ . Mit steigendem  $n$  wächst die Amplitude der Oszillation. Wenn die Separation der Zeitskalen zwischen mRNA- und Protein-Dynamik größer wird, verschwinden die Oszillationen für kleine Werte von  $n$ . (Parameterwerte:  $m_i = 2, 0$ ,  $\theta_i = 0, 5$ ,  $\gamma_i = \delta_i = \omega_i = 1, 0$ )

auftritt. Dies liegt an der Tatsache, dass XOR eine reversible Funktion ist, für die die Regulationsfunktionen  $F_1(P_1, P_2)$  und  $F_2(P_1)$  nicht unabhängig voneinander variiert werden können. Es kann gefolgert werden, dass, obwohl XOR Oszillationen erlaubt, diese nicht mit HillCubes realisiert werden können. Mit einer anderen Implementierung der XOR Funktion könnte das kontinuierliche System jedoch Oszillationen zeigen.

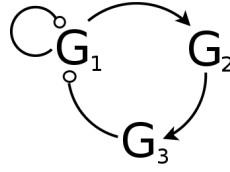
### 3.2.2 Netzwerke aus drei Genen

In einem Netzwerk aus drei Genen kann die zusätzliche Verknüpfung entweder eine Selbstregulation sein, oder ein zusätzlicher Eingang eines anderen Knotens, was im Folgenden als *Quervernetzung* bezeichnet wird. Diese beiden Fälle werden für ein Netzwerk aus drei Genen in den nächsten beiden Abschnitten separat betrachtet. Da nun vier Exponent-Parameter vorliegen, ist die einfache dreidimensionale Darstellung der Regionen im Parameterraum nicht mehr möglich. Aus diesem Grund werden die

Funktion	HillCube	$\tilde{f}_1 p_j$	$\tilde{f}_1 p_3$
$G_j \text{ AND } G_3$	$F^+(P_j) \cdot F^+(P_3)$	$\frac{n}{1+(P_j^*/\theta)^n}$	$\frac{n}{1+(P_3^*/\theta)^n}$
$\text{NOT } G_j \text{ AND } G_3$	$F^-(P_j) \cdot F^+(P_3)$	$-\frac{n}{1+(\theta/P_j^*)^n}$	$\frac{n}{1+(P_3^*/\theta)^n}$
$G_j \text{ AND NOT } G_3$	$F^+(P_j) \cdot F^-(P_3)$	$\frac{n}{1+(P_j^*/\theta)^n}$	$-\frac{n}{1+(\theta/P_3^*)^n}$
$G_j \text{ NOR } G_3$	$F^-(P_j) \cdot F^-(P_3)$	$-\frac{n}{1+(\theta/P_j^*)^n}$	$-\frac{n}{1+(\theta/P_3^*)^n}$
$G_j \text{ XOR } G_3$	$F^+(P_j) \cdot F^-(P_3)$	$\frac{n}{1+(P_3^*/P_j^*)^n}$	$\frac{n}{1+(P_j^*/P_3^*)^n}$
	$+F^-(P_j) \cdot F^+(P_3)$	$-\frac{n}{1+(\theta/P_j^*)^n}$	$-\frac{n}{1+(\theta/P_3^*)^n}$

Tabelle 3: Exponent-Parameter  $\tilde{f}_1 p_j$  und  $\tilde{f}_1 p_3$  für die betrachteten Regulationsfunktionen. Im Fall einer Selbstregulation gilt  $j = 1$ , im Fall einer Quervernetzung ist  $j = 2$ .

jeweiligen Exponent-Parameter der jeweiligen HillCubes berechnet, die eine kontinuierliche Realisierung der betrachteten Booleschen Funktionen darstellen und auf der Hill-Funktion  $F^+$  bzw.  $F^-$  basieren (siehe Abschnitt 2.3.2). Die Exponent-Parameter werden bestimmt, indem die Ableitungen der generalisierten Funktionen  $\tilde{f}_1(p_j, p_k) = \frac{F_1(P_j^* p_j, P_k^* p_k)}{F_1^*}$  nach den Protein-Konzentrationen  $P_j$  und  $P_k$  gebildet werden (siehe Abschnitt 2.3.4). Tabelle 3 zeigt die genaue Form der generalisierten Ableitungen für die betrachteten Regulationsfunktionen. Zur Untersuchung der lokalen Dynamik werden für feste Fixpunktkonzentrationen  $P_1^*, P_2^*, P_3^*$  die Parameter  $n$  und  $\theta$  variiert und die resultierenden Eigenwerte der Jacobi-Matrix analysiert. Immer wenn die Übereinstimmung der Zustände einer kontinuierlichen Oszillation mit dem Booleschen Zyklus analysiert wird, wird die kontinuierliche Oszillation in eine Abfolge von Booleschen Werten übersetzt. Dazu wird in den kontinuierlichen Zeitreihen für jede mRNA nach dem Maximal- und Minimalwert gesucht und der Mittelwert als individueller Schwellwert eines Gens definiert. Liegt der Konzentrationswert eines Knotens über dem individuellen Schwellwert, wird der Zustand des Knotens als 1 gespeichert, ist die Konzentration kleiner, so ist der Zustand des Knotens 0. Anschließend kann die Abfolge von Booleschen Zuständen mit dem Booleschen Zyklus des Booleschen Modells verglichen werden.

3.2.2.1 *Selbstregulation*

In einem Netzwerk aus drei Genen, bei der ein Knoten eine zusätzliche Selbstregulation hat, wird Knoten  $G_1$  durch sich selbst reguliert und durch  $G_3$ . Um das kontinuierliche Modell mit dem Booleschen Modell zu vergleichen, sei die Funktion  $F_1$  des ersten Gens in den Differentialgleichungen durch HillCubes [89] realisiert (siehe auch Abschnitt 2.3.2). Wie schon im Fall des Netzwerks aus zwei Genen werden im Folgenden die zehn Booleschen Funktionen für einen Knoten mit zwei Eingängen diskutiert, die von beiden Variablen abhängen. Für diese Funktionen wird die Boolesche Dynamik mit der Dynamik durch kontinuierliche HillCubes verglichen. Es wird dabei nur der Fall betrachtet, das Gen 2 durch Gen 1 und Gen 3 durch Gen 2 aktiviert wird, d.h.  $\tilde{f}_{2p_1} > 0$  und  $\tilde{f}_{3p_2} > 0$ . Der Fall, dass ein oder beide Gene Inhibitoren sind, kann durch Invertieren der Zustände der einzelnen Knoten und durch Vorzeichenwechsel der jeweiligen Verknüpfungen auf den ersten Fall übertragen werden.

Abbildung 26 zeigt für die verschiedenen Funktionen Bereiche im Parameterraum, die durch Bifurkationen getrennt sind, als Funktion des Hill-Koeffizienten  $n$  und des Schwellwerts  $\theta$  der Hill-Funktion, die für alle Knoten gleich seien. Stabile und instabile Fixpunkte (rot bzw. gelb) sind durch eine Sattelnoden-Bifurkation separiert und stabile und instabile Spiralen (blau bzw. grün) trennt eine Hopf-Bifurkation (siehe dazu auch Abschnitt 2.3.3). Für gegebene Werte von  $n$  und  $\theta$  hängen die Eigenwerte von den Konzentrationen am Fixpunkt ab. Für diese wurden Werte zwischen 0 und 1 gewählt, die sich in typischen Computersimulationen des jeweiligen Systems ergeben, doch die Ergebnisse ändern sich nur wenig wenn die Fixpunktkonzentrationen variiert werden.

AND / OR  
Übereinstimmung

Die Funktionen  $G_1$  AND  $G_3$  und  $G_1$  OR  $G_3$  führen im Booleschen Modell zu zwei Fixpunkten, 000 und 111 (siehe Abbildung 26a). Mit HillCubes hat die Jacobi-Matrix des Systems nur reale Eigenwerte, d.h. das kontinuierliche Modell zeigt keine Hopf-Bifurkation. Die Konzentrationswerte des ersten stabilen Fixpunktes im kontinu-

### 3.2 Gekoppelte Feedback-Schleifen

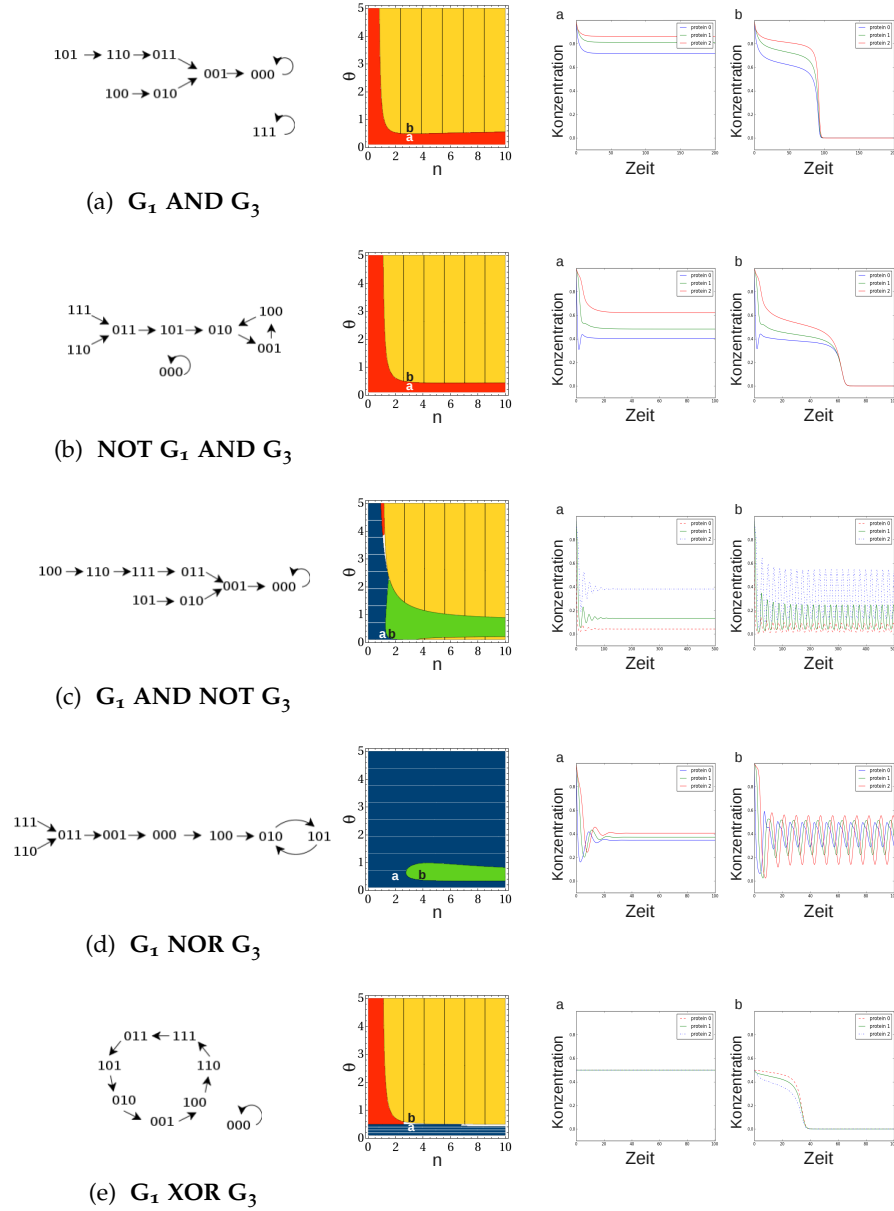


Abbildung 26: Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells einer Schleife aus drei Genen mit einer zusätzlichen Selbstregulation. Die Berechnungen der Eigenwerte hängen von den Konzentrationen am Fixpunkt ab. Die gewählten Werte für  $P_1^*, P_2^*, P_3^*$  sind: (a) (0,7; 0,8; 0,85), (b) (0,42; 0,52; 0,62), (c) (0,1; 0,25; 0,75), (d) (0,4; 0,4; 0,45), (e) (0,5; 0,5; 0,5).

ierlichen Modell sind (0,0,0). Dieser Gleichgewichtszustand muss separat betrachtet werden, da die generalisierte Methode durch die Normierung nur Gleichgewichtszustände mit positiven Konzentrationen mit Werten  $> 0$  behandelt. Ob das kontinuierliche Modell für diese Funktionen einen zweiten stabilen Fixpunkt aufweist, hängt

von den Parameterwerten ab: Vor der Sattelnknoten-Bifurkation, d. h. im roten Bereich des Parameterraums, liegt ein stabiler Fixpunkt vor. Dieser befindet sich z. B. mit Parametern  $n = 3$  und  $\theta = 0,44$  bei Konzentrationen  $(0,7; 0,8; 0,85)$ . Wenn der Hill-Koeffizient  $n$  groß genug ist, nähern sich die Fixpunktkonzentrationen den Werten  $(m, m, m)$  an, wobei  $m$  die maximale Transkriptionsrate ist (siehe Abschnitt 2.3.2). Das Modul mit diesen Funktionen verhält sich damit sehr ähnlich zur einfachen positiven Feedback-Schleife, und das Boolesche und kontinuierliche Modell zeigen eine gute Übereinstimmung.

NOT AND /  
NOT OR  
keine  
Übereinstimmung

Die Funktionen NOT  $G_1$  AND  $G_3$  und NOT  $G_1$  OR  $G_3$  (siehe Abbildung 26b) führen für das Boolesche Modell zu einem Fixpunkt (000 bzw. 111) und zu einem Zyklus aus den Netzwerkzuständen 010, 001 und 100 (bzw. 101, 011 und 110). Im kontinuierlichen Modell mit HillCubes liegen wieder Eigenwerte ohne Imaginärteil vor, d. h. das kontinuierliche Modell zeigt keine Hopf-Bifurkation. Damit tritt der Zyklus, der im Booleschen Modell zustande kommt, nicht im kontinuierlichen Modell auf. Dieses hat einen Fixpunkt  $(0,0,0)$ , der mit dem des Booleschen Modells übereinstimmt, und ein weiterer Fixpunkt kann bei mittleren Konzentrationswerten auftreten. Für Parameterwerte  $n = 3$  und  $\theta = 0,41$  sind diese z. B.  $(0,42; 0,52; 0,62)$ .

AND NOT /  
OR NOT  
keine  
Übereinstimmung

Die Funktionen  $G_1$  AND NOT  $G_3$  und  $G_1$  OR NOT  $G_3$  (siehe Abbildung 26c) führen im Booleschen Modell zu einem Fixpunkt (000 bzw. 111), der ein globaler Attraktor ist. Der Fixpunkt  $(0,0,0)$  ist im kontinuierlichen Modell mit HillCubes ein instabiler Fixpunkt und es gibt Bereiche des Parameterraums, in denen eine Hopf-Bifurkation möglich ist, so dass Oszillationen zwischen den Zuständen 011, 001, 000, 100, 110, 111 auftreten. Dies ist der selbe Zyklus, der auch für eine ungerade Feedback-Schleife aus drei Knoten gefunden wurde. Dieser Zyklus tritt auf, da die Knoten des kontinuierlichen Modells ihre Zustände nicht synchron aktualisieren. Im Booleschen Zustandsraum ist zu erkennen, dass der Zustand 001 als transienter Zustand zum Fixpunkt 000 führt. Im kontinuierlichen Fall kann ein leichter Abfall der Konzentration des dritten Knotens zu einer Erhöhung der Konzentration des ersten Knotens führen (so lange diese nicht bereits zu klein ist), und dadurch zu einer Wiederholung der einzelnen Zustände in Form einer zyklischen Trajektorie.

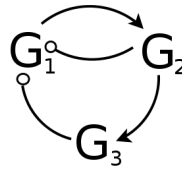
Die Funktionen  $G_1 \text{ NOR } G_3$  und  $G_1 \text{ NAND } G_3$  (siehe Abbildung 26d) führen im Booleschen Modell zu einem Zyklus der Länge zwei, der die Zustände 010 und 101 (bzw. 101 und 010) enthält und ein globaler Attraktor ist. Im kontinuierlichen Modell mit HillCubes liegen nur Eigenwerte mit Imaginärteil vor, so dass eine Hopf-Bifurkation möglich ist. Diese tritt auf, wenn der Hill-Koeffizient  $n$  groß genug ist. Für kleine Werte von  $n$  liegt ein Fixpunkt mit mittleren Konzentrationen um 0,5 vor. Dies kommt von einer Mittelung der Booleschen Zustände 010 und 101. Jenseits der Hopf-Bifurkation kommt es zu Oszillationen zwischen den Zuständen 000, 100, 110, 111, 011 und 001. Dies ist erneut der selbe Zyklus, der auch für die einfache ungerade Feedback-Schleife aus drei Knoten gefunden wurde.

*NOR / NAND  
qualitative  
Übereinstimmung*

Abschließend werden die Funktionen  $G_1 \text{ XOR } G_3$  und  $G_1 \text{ XNOR } G_3$  (siehe Abbildung 26e) betrachtet. Im Gegensatz zu den bisher in Abschnitt 3.2.2 diskutierten Funktionen sind diese nicht kanalisierend, sondern ändern ihren Ausgabewert immer dann, wenn einer der Eingangsknoten den Zustand ändert (siehe auch Abschnitt 2.4.1). Im Booleschen Modell führen diese Funktionen zu einem Fixpunkt (000 bzw. 111) und zu einem Zyklus, der aus den sieben verbleibenden Netzwerkzuständen besteht. Die Eigenwerte des kontinuierlichen Modells können sowohl real als auch imaginär sein, je nach Wahl der Werte für  $n$  und  $\theta$ . Oszillationen sind damit auch im kontinuierlichen Modell möglich. Im Gegensatz zu den bisherigen Fällen können jedoch keine Parameter für die HillCubes bestimmt werden, mit denen in der Simulation Oszillationen der Konzentrationen gefunden werden. Dies kann, wie im Fall des Netzwerks aus zwei Genen, an der Reversibilität der Funktionen liegen, da die Regulationsfunktionen  $F_1(P_1, P_3)$ ,  $F_2(P_1)$  und  $F_3(P_2)$  nicht unabhängig voneinander variiert werden können. Obwohl die Funktionen  $G_1 \text{ XOR } G_3$  und  $G_1 \text{ XNOR } G_3$  für das kontinuierliche System also Oszillationen erlauben, konnten sie mit HillCubes nicht realisiert werden. Es wird stattdessen ein stabiler Fixpunkt (0,0,0) gefunden und ein weiterer stabiler Fixpunkt mit Konzentrationen (0,5;0,5;0,5) für  $n = 3$  und  $\theta = 0,5$ , der für große  $\theta$  instabil wird.

*XOR / XNOR  
keine  
Übereinstimmung*

## 3.2.2.2 Quervernetzung



Im Fall einer zusätzlichen Quervernetzung wird Knoten  $G_1$  durch Knoten  $G_2$  und  $G_3$  reguliert. Auch für dieses System wird im Folgenden die Boolesche und kontinuierliche Dynamik der zehn betrachteten Funktionen verglichen.

AND / OR  
Übereinstimmung

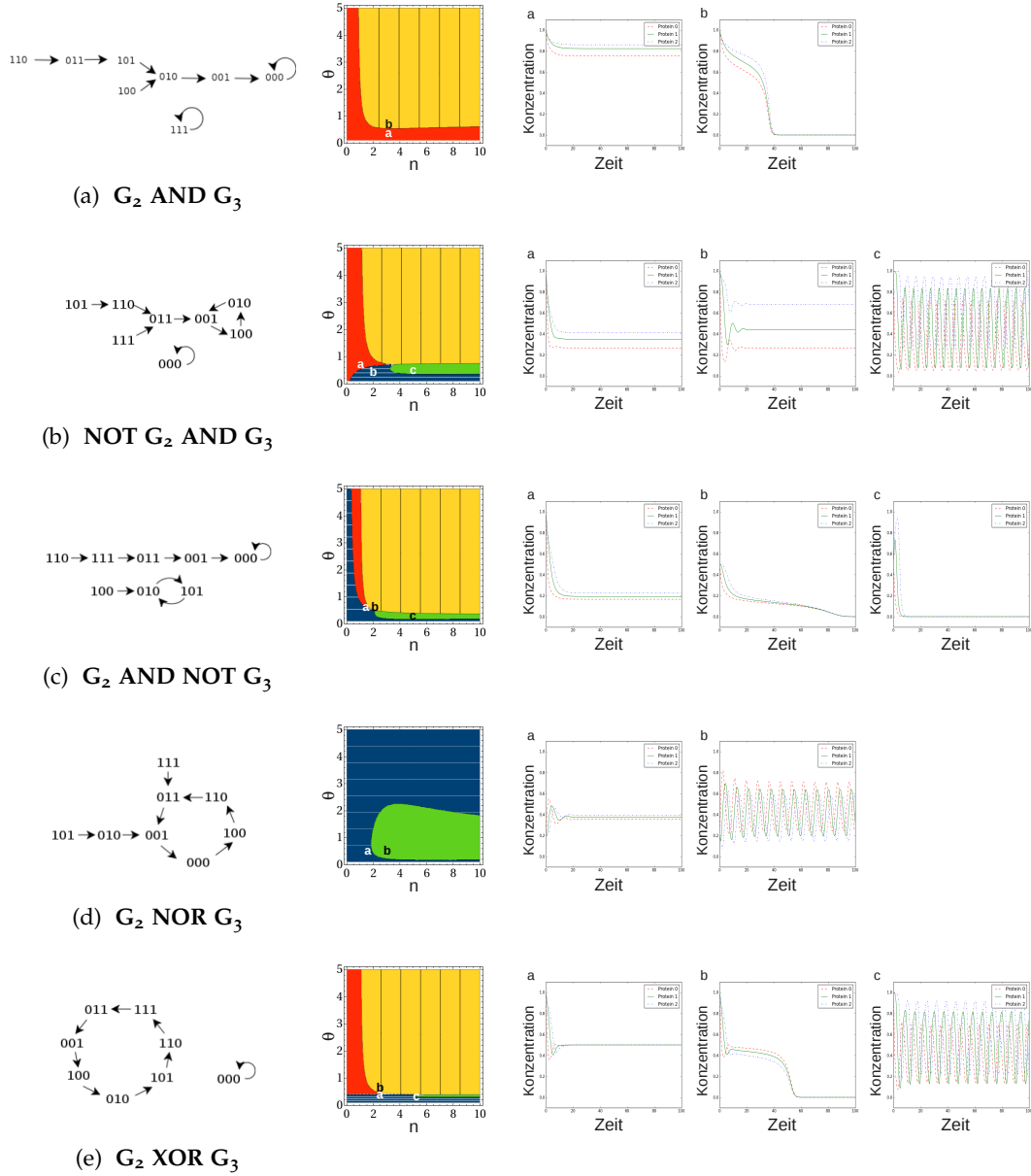
Für die Funktionen  $G_2$  AND  $G_3$  und  $G_2$  OR  $G_3$  (siehe Abbildung 27a) führt das Boolesche Modell zu zwei Fixpunkten (000 und 111). Es treten damit die gleichen Attraktoren auf, wie für das Netzwerk mit Selbstregulation, jedoch mit einer etwas anderen Zustandsabfolge der Transienten. Im kontinuierlichen Modell mit HillCubes ist eine Sattelknoten-Bifurkation möglich: Der Fixpunkt  $(0,0,0)$  ist stabil und es gibt einen weiteren Fixpunkt in Übereinstimmung mit 111 (z. B.  $(0,7;0,81;0,85)$  mit  $n = 3$  und  $\theta = 0,45$ ), der durch eine Sattelknoten-Bifurkation instabil wird, wenn  $\theta$  wächst.

NOT AND /  
NOT OR  
qualitative  
Übereinstimmung

Auch die Funktionen NOT  $G_2$  AND  $G_3$  und NOT  $G_2$  OR  $G_3$  (siehe Abbildung 27b) zeigen für das Boolesche Modell die gleichen Attraktoren wie das System mit Selbstregulation, aber eine etwas andere Zustandsabfolge der Transienten. Im kontinuierlichen Modell mit HillCubes ist  $(0,0,0)$  ein Fixpunkt, und durch eine Sattelknoten-Bifurkation kann ein weiterer stabiler Fixpunkt auftreten, oder es kommt durch eine Hopf-Bifurkation zu Oszillationen. Der Fixpunkt hat niedrige Konzentrationswerte (z. B.  $(0,28;0,38;0,45)$  mit  $n = 1,3$  und  $\theta = 0,5$ ). Die Oszillationen bestehen aus den Zuständen 001, 101, 100, 110, 010, 011 und enthalten damit u. a. die drei Zustände 001, 100, 010 des Booleschen Zyklus. Da jedoch im kontinuierlichen Modell keine zwei Knoten ihren Zustand zur exakt gleichen Zeit ändern, treten zwischen den drei Netzwerkzuständen des Booleschen Zyklus sogenannte „Zwischenzustände“ auf. Für diese Zwischenzustände gibt es in diesem Fall jeweils zwei Möglichkeiten, da jeder der beiden Knoten zuerst seinen Zustand ändern kann. Das System wählt jenen Zustand als Zwischenzustand, bei dem ein Knoten, der im vorherigen Zeitschritt gerade „an“ gegangen ist, nicht direkt wieder „aus“ geht. Interessanterweise treten diese Zwischenzustände



### 3.2 Gekoppelte Feedback-Schleifen



1 Stabiler Knoten    2 Instabiler Knoten    3 Stabile Spirale    4 Instabile Spirale

Abbildung 27: Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells einer Schleife aus drei Genen mit einer zusätzlichen Quervernetzung. Die Berechnungen der Eigenwerte hängen von den Konzentrationen am Fixpunkt ab. Die Werte für  $P_1^*, P_2^*, P_3^*$  sind: (a) (0,81; 0,85; 0,74), (b) (0,75; 0,8; 0,5), (c) (0,2; 0,35; 0,3), (d) (0,5; 1,0; 0,25), (e) (0,4; 0,4; 0,4).

de im Booleschen Modell als transiente Zustände auf, die direkt aufeinander folgen und auf den Zyklus führen. Wenn diese Situation mit dem sehr ähnlichen Fall der gekoppelten Feedback-Schleife mit Selbstregulation und der Funktion NOT  $G_1$  AND  $G_3$  verglichen wird (siehe Abbildung 26b), bei der im kontinuierlichen Modell keine

Oszillationen auftreten, fällt auf, dass dort die Transiente über eine Zustandsänderung zu dem Zyklus führt, bei dem alle drei Knoten zur gleichen Zeit ihre Werte ändern. Damit ist der Unterschied zum kontinuierlichen Modell, in dem nur ein Knoten pro Zeitintervall seinen Zustand ändern kann, anscheinend zu groß, um den Zyklus des Booleschen Modells zu reproduzieren.

AND NOT /  
OR NOT  
keine  
Übereinstimmung

Die Funktionen  $G_2$  AND NOT  $G_3$  und  $G_2$  OR NOT  $G_3$  (siehe Abbildung 27c) zeigen für das Boolesche Modell Unterschiede im Vergleich zum Fall mit Selbstregulation: Es gibt einen Fixpunkt (000 bzw. 111) und einen Zyklus der Länge zwei der Zustände 010 und 101. Im kontinuierlichen Modell ist (0,0,0) ein Fixpunkt und es gibt einen weiteren Fixpunkt bei mittleren Konzentrationswerten (z. B. (0,18; 0,20; 0,25) mit  $n = 1,3$  und  $\theta = 0,5$ ). Dieser zweite Fixpunkt verschwindet bei einer Zunahme von  $n$  durch eine Sattelnoden-Bifurkation. Die Hopf-Bifurkation, und damit Oszillationen des kontinuierlichen Modells, können in Simulationen nicht gefunden werden. Im Booleschen Modell sind die oszillierenden Zustände 010 und 101, also die gleichen wie mit der Funktion  $G_1$  NOR  $G_3$ , für die auch im kontinuierlichen System Oszillationen auftreten. Der Unterschied ist in diesem Fall die Gegenwart des Fixpunktes 000, der die Oszillationen „einfangen“ kann.

NOR / NAND  
qualitative  
Übereinstimmung

Die Funktionen  $G_2$  NOR  $G_3$  und  $G_2$  NAND  $G_3$  (siehe Abbildung 27d) führen im Booleschen Modell zu einem Zyklus aus fünf Zuständen, der ein globaler Attraktor ist. Im kontinuierlichen Modell mit HillCubes liegen nur Eigenwerte mit Imaginärteil vor, so dass eine Hopf-Bifurkation in großen Bereichen des Parameterraums möglich ist. Für kleine Werte des Hill-Koeffizienten  $n$  gibt es einen stabilen Fixpunkt (z. B. (0,38; 0,4; 0,41) mit  $n = 1,5$  und  $\theta = 0,5$ ), doch wenn  $n$  erhöht wird, kommt es zu Oszillationen zwischen den Zuständen 001, 000, 100, 110, 111, 011, die nahezu mit dem Booleschen Zyklus übereinstimmen. Dieser Boolesche Zyklus besteht aus einer Abfolge von vier Zuständen mit Hamming-Abstand 1 und einem Übergang zwischen zwei Zuständen mit Hamming-Abstand 2. Im kontinuierlichen Modell ist der Zustand 111, der im Booleschen Modell als transienter Zustand von außen auf den Zyklus zum Zustand 011 führt, ein geeigneter Zwischenzustand und kommt aus diesem Grund in den Oszillationen vor.

Für die Funktionen  $G_2 \text{ XOR } G_3$  und  $G_2 \text{ XNOR } G_3$  (siehe Abbildung 27e), liegt im Booleschen Modell ein Fixpunkt (000 bzw. 111) vor, und ein Zyklus der verbleibenden sieben Zustände. Im kontinuierlichen Modell kann es zu einer Sattelnoden-Bifurkation kommen, die zu einem zusätzlichen Gleichgewichtszustand (mit Konzentration bei  $(0,5; 0,5; 0,5)$  für  $n = 2,5$  und  $\theta = 0,5$ ) führt. Es kann zudem eine Hopf-Bifurkation auftreten, wodurch es Oszillationen zwischen den Zuständen 011, 001, 101, 100, 110, 111 gibt. Die Abfolge der Zustände im Booleschen Modell ähnelt dem Zyklus der gekoppelten Feedback-Schleife mit Selbstregulation, für die im kontinuierlichen Modell keine Oszillationen gefunden werden. Bei genauer Betrachtung beider Module ist zu erkennen, dass beim System mit Selbstregulation für den Übergang vom Booleschen zum kontinuierlichen Modell 000 als Zwischenzustand eingefügt werden muss. Dieser Zustand ist jedoch ein Fixpunkt des Systems, so dass es nicht zu Oszillationen kommen kann.

*XOR / XNOR  
qualitative  
Übereinstimmung*

Für die gezeigten Ergebnisse wurde ein Zeitskalenverhältnis  $\epsilon = 1$  angenommen, doch auch für größere Werte von  $\epsilon$  sind keine signifikanten qualitativen Änderungen der Ergebnisse zu beobachten. Analog zum vorherigen Abschnitt 3.2.1 führt eine schnellere mRNA-Dynamik nur zu einer Verschiebung der verschiedenen Regionen im Parameterraum, so dass Oszillationen dann erst für höhere Werte des Hill-Koeffizienten  $n$  möglich sind.

3.2.3 Verallgemeinerung auf  $N$  Gene

Im Folgenden wird die Analyse der gekoppelten Feedback-Schleifen auf ein Netzwerk mit  $N$  Genen ausgeweitet und die Fälle der zusätzlichen Selbstregulation und der Quervernetzung werden verallgemeinert zusammengefasst. Es soll  $x$  der Knoten sein, der den zusätzlichen Eingang für das erste Gen darstellt, d. h. es gilt  $x = 1$  für eine Selbstregulation und  $x \in \{2, \dots, N-1\}$  für eine Quervernetzung. Analog zur einfachen Feedback-Schleife kann die Jacobi-Matrix aufgestellt werden um das charakteristische Polynom zu berechnen:

$$J_N = \left( \begin{array}{ccccc|ccccc} -\epsilon & 0 & 0 & \dots & 0 & \epsilon \tilde{f}_1 p_x & 0 & \dots & 0 & \epsilon \tilde{f}_1 p_N \\ 0 & -\epsilon & 0 & \dots & 0 & \epsilon \tilde{f}_2 p_1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -\epsilon & \dots & 0 & 0 & \epsilon \tilde{f}_3 p_2 & \dots & 0 & 0 \\ \vdots & & & \ddots & & \vdots & & \ddots & & \\ 0 & 0 & 0 & \dots & -\epsilon & 0 & 0 & \dots & \epsilon \tilde{f}_N p_{N-1} & 0 \\ \hline 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & -1 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & \dots & 0 & 0 & -1 & \dots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & \dots & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 \\ \vdots & & & \ddots & & \vdots & & \ddots & & \\ 0 & 0 & 0 & \dots & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 & -1 \end{array} \right).$$

Dabei steht der Eintrag  $\epsilon \tilde{f}_1 p_x$  in Spalte  $x + N$  der Jacobi-Matrix, wenn  $x$  das Gen ist, das den zusätzlichen Eingang von  $G_1$  darstellt. Für das charakteristische Polynom folgt:

$$0 = [(1 + \lambda)(\epsilon + \lambda)]^N - \tilde{f}_{N_{\text{eff}}} - \epsilon^x \tilde{f}_{x_{\text{eff}}} [(1 + \lambda)(\epsilon + \lambda)]^{N-x}$$

$$\text{mit } \tilde{f}_{N_{\text{eff}}} = \tilde{f}_1 p_N \cdot \prod_{j=2}^N \tilde{f}_j p_{j-1} \quad \text{und} \quad \tilde{f}_{x_{\text{eff}}} = \tilde{f}_1 p_x \cdot \prod_{j=2}^x \tilde{f}_j p_{j-1}.$$

Für die folgende Betrachtung sollen mRNA- und Protein-Dynamik weiterhin auf der gleichen Zeitskala ablaufen, d. h. für das Zeitskalenverhältnis gilt  $\epsilon = 1$ . Mit  $\lambda_S = 0$  folgt aus dem charakteristischen Polynom eine analytische Bedingung für eine Sattelnoden-Bifurkation:

$$\tilde{f}_{N_{\text{eff}}} = 1 - \tilde{f}_{x_{\text{eff}}}. \quad (21)$$

Für eine Hopf-Bifurkation mit imaginären Eigenwerten  $\lambda_H = \pm i \omega$  gilt die Bedingung

$$|\tilde{f}_{N_{\text{eff}}}| = |(1 + i\omega)^{2N} - \tilde{f}_{x_{\text{eff}}}(1 + i\omega)^{2(N-x)}|. \quad (22)$$

Die Dynamik des Systems hängt von der Reihenfolge ab, in der bei Variation der Parameter die beiden Bedingungen (21) und (22) erfüllt werden. Wenn zuerst die Sattelknoten-Bifurkation auftritt, kann keine Hopf-Bifurkation mehr stattfinden, die von einer stabilen zu einer instabilen Spirale führt (siehe auch Abschnitt 3.1.2).

Abbildung 28 zeigt die Regionen im Parameterraum von  $\tilde{f}_{x_{eff}}$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}}$ , in denen die verschiedenen Bifurkationen auftreten. Die unterschiedlichen Abbildungen zeigen die Variation von  $x$ , also des Index des Knotens der als zusätzlicher Eingangsknoten auf Gen 1 wirkt:  $x = 1$  entspricht dem Fall einer Selbstregulation von  $G_1$  (erste Abbildung),  $x = 2$  ist der Fall einer Quervernetzung durch den zweiten Knoten, usw. Die schwarzen Diagonalen entsprechen der Bedingung für eine Sattelknoten-Bifurkation (Gleichung (21)), die nicht explizit von  $N$  und  $x$  abhängt, jedoch implizit, durch die Werte von  $\tilde{f}_{x_{eff}}$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}}$ . Die farbigen Linien zeigen die Bedingung für eine Hopf-Bifurkation (Gleichung (22)) für verschiedene Anzahlen von Knoten  $N$  im System: In jedem Graphen wird die Anzahl der Knoten im Netzwerk variiert von  $x + 1$  bis 10. Die vier Quadranten jedes Graphs reflektieren die verschiedenen Fälle der Regulationsfunktionen:

- $\tilde{f}_{x_{eff}} < 0$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}} < 0 \rightarrow x \text{ NOR } N$ ,
- $\tilde{f}_{x_{eff}} < 0$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}} > 0 \rightarrow \text{NOT } x \text{ AND } N$ ,
- $\tilde{f}_{x_{eff}} > 0$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}} > 0 \rightarrow x \text{ AND } N$ ,
- $\tilde{f}_{x_{eff}} > 0$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}} < 0 \rightarrow x \text{ AND NOT } N$ .

Die Funktion  $x \text{ XOR } N$  gehört als reversible Funktion zu den beiden Bereichen  $\tilde{f}_{x_{eff}} > 0, \tilde{f}_{N_{eff}} < 0$  und  $\tilde{f}_{x_{eff}} < 0, \tilde{f}_{N_{eff}} > 0$  da ihr Ausgabewert immer wechselt, wenn einer der Eingangsknoten seinen Zustand ändert.

Kleine Werte von  $\tilde{f}_{x_{eff}}$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}}$  befinden sich im Zentrum jedes Graphen (dargestellt als Punkt), an einem stabilen Fixpunkt mit positiven Konzentrationswerten. Eine Zu- oder Abnahme von  $\tilde{f}_{x_{eff}}$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}}$  führt zu den verschiedenen Fällen der Booleschen Funktionen und kann damit, beim Eintreffen der entsprechenden Bedingung, zum Auftreten von Bifurkationen führen. Für den Fall  $x \text{ AND } N$  ist beispielsweise die Bedingung für eine Sattelknoten-Bifurkation erfüllt, wenn durch die Zunahme von  $\tilde{f}_{x_{eff}}$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}}$  die schwarze Diagonale erreicht wird. Durch Überqueren dieser Bifurkationslinie

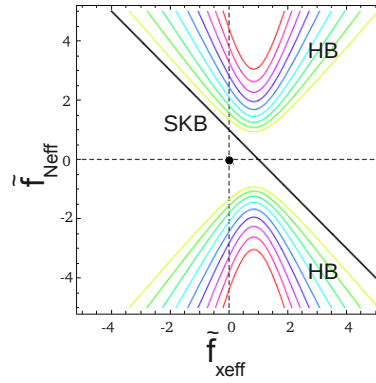
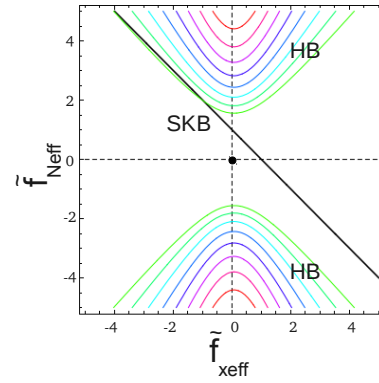
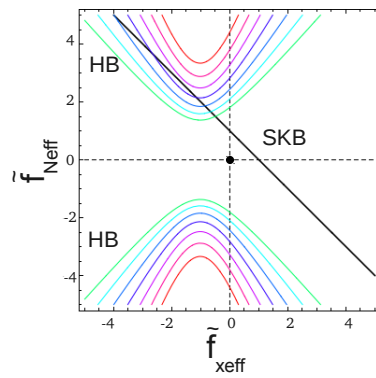
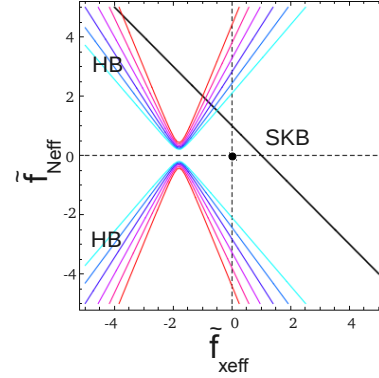
(a) Selbstregulation:  $x = 1$ (b) Quervernetzung:  $x = 2$ (c) Quervernetzung:  $x = 3$ (d) Quervernetzung:  $x = 4$ 

Abbildung 28: Bereiche des Parameterraums von  $\tilde{f}_{x_{eff}}$  und  $\tilde{f}_{N_{eff}}$ , in denen die verschiedenen Bifurkationen auftreten: Die schwarze Diagonale entspricht jeweils der Bedingungen einer Sattelknoten-Bifurkation (SKB) und die farbigen Linien stellen für verschiedene Größen  $N$  des Netzwerks die Bedingung für eine Hopf-Bifurkation (HB) dar, wobei  $N$  in jedem Graph zwischen  $x + 1$  (grün) und 10 (rot) variiert wird. Die verschiedenen Abbildungen zeigen eine Variation von  $x$ , also des Index des Knotens, der als zusätzlicher Eingang auf  $G_1$  wirkt. Parameterwerte:  $\lambda = 0,4$

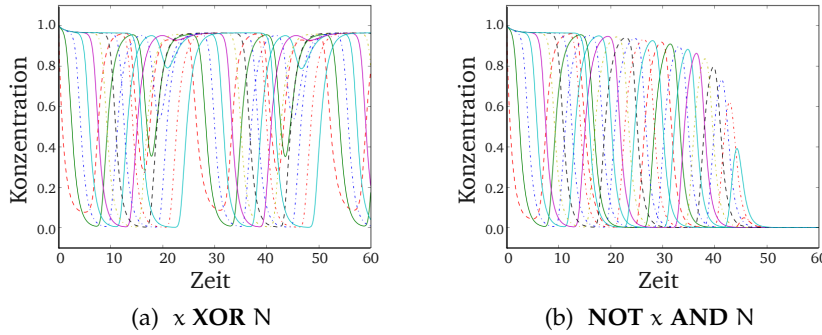


Abbildung 29: Oszillationen der Konzentrationen in einem Netzwerk mit  $N = 10$  Knoten,  $x = 4$  und den Regulationsfunktionen  $x \text{ XOR } N$  und  $\text{NOT } x \text{ AND } N$ . (Parameterwerte für die Zeitreihen:  $n = 5, \theta = 0,5$ .)

wird der stabile Fixpunkt instabil. Im Fall  $x \text{ NOR } N$  dagegen kann eine Variation der Werte von  $\tilde{f}_{x_{\text{eff}}}$  und  $\tilde{f}_{N_{\text{eff}}}$  zu einer Hopf-Bifurkation führen, und damit zu Oszillationen der Konzentrationen.

In Übereinstimmung mit den vorherigen Ergebnissen der Netzwerke mit drei Genen, verändert sich die Ordnung der Sattelknoten- und Hopf-Bifurkation für die Funktionen  $\text{NOT } x \text{ AND } N$  und  $x \text{ XOR } N$  für größere  $x$ : Im Fall einer Selbstregulation (Abbildung 28a) findet die Sattelknoten-Bifurkation statt, bevor die Bedingung für eine Hopf-Bifurkation erreicht wird, so dass es nicht zu Oszillationen kommen kann, wohingegen im Fall einer Quervernetzung durch den zweiten Knoten (Abbildung 28b) die Reihenfolge vertauscht ist, so dass bei bestimmten Parametersätzen eine Hopf-Bifurkation auftritt. Für steigende Werte von  $x$  (Abbildungen 28c und 28d), werden die Bedingungen für die Hopf- und Sattelknoten-Bifurkationen auch für Netzwerke mit mehr als drei Knoten in verschiedenen Bereichen des Parameterraums in verschiedener Reihenfolge erreicht.

Für das Netzwerk aus nur drei Genen ist es nicht leicht, in Simulationen Oszillationen für die beiden Fälle  $x \text{ XOR } N$  und  $\text{NOT } x \text{ AND } N$  zu finden, da die Region des Parameterraums jenseits der Hopf-Bifurkation sehr klein ist. Abbildung 28d zeigt, dass dieser Bereich für größere Netzwerke größer wird, wenn  $x$ , der Index des zusätzlich regulierenden Gens, steigt. Abbildung 29 zeigt für die Funktionen  $x \text{ XOR } N$  und  $\text{NOT } x \text{ AND } N$  Zeitreihen eines Netzwerks mit 10 Knoten, für das die Quervernetzung so gewählt wurde, dass sie vom vierten Knoten des Netzwerks ausgeht. Für

dieses System führt die Funktion  $x \text{ XOR } N$  zu anhaltenden Oszillationen, dagegen ist das periodische Verhalten, das durch die Funktion  $\text{NOT } x \text{ AND } N$  entsteht, offensichtlich nicht stabil. Die Langlebigkeit dieser Oszillationen vor dem Kollaps mit dem Fixpunkt deutet an, dass der Grenzzyklus in einen instabilen Zyklus übergeht, d. h. es findet eine Sattelknoten-Bifurkation von periodischen Bahnen statt.

Auch Module der gekoppelten Feedback-Schleifen mit mehr als drei Knoten sind in der Literatur zu finden: Norrell et al. [16] haben numerisch für feste Parameterwerte die verschiedenen Fälle der Booleschen Funktionen für den Knoten mit zwei Eingangsknoten in einer Schleife aus vier Genen untersucht. Im Gegensatz zu dem in dieser Arbeit vorgestellten Modell, modellieren sie die Translation in Form einer Zeitverzögerung anstelle der dynamischen Gleichungen für die mRNA-Konzentrationen. Die Autoren führen zudem keine Bifurkationsanalyse durch, sondern beobachten für jeden Typ der logischen Funktionen die Dynamik, die für einen bestimmten Parametersatz auftritt. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen dieses Kapitels finden sie, dass im kontinuierlichen Modell nur die XOR, NOR und AND NOT Funktionen zu Oszillationen führen. In einer weiteren Veröffentlichung [17] weisen sie auf die Bedeutung der genauen Form der Regulationsfunktionen für nichttriviales dynamisches Verhalten hin. Dieses Ergebnis stimmt mit der hier getroffenen Aussage überein, dass die Hill-Koeffizienten  $n$  für periodisches Verhalten groß genug sein müssen.



3.2.4 *Diskussion der gekoppelten Feedback-Schleifen*

Tabelle 4 zeigt zusammenfassend die Ergebnisse der Untersuchung der Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik auf gekoppelten Feedback-Schleifen mit zwei oder drei Genen für die betrachteten Regulationsfunktionen. Genau wie im Fall der einfachen Feedback-Schleifen gibt es auch bei den gekoppelten Feedback-Schleifen Systeme in denen die Boolesche und kontinuierliche Dynamik übereinstimmen, und Fälle, in denen große qualitative Unterschiede auftreten. Es sind vor allem Unterschiede in Bezug auf Oszillationen zu beobachten, die im Folgenden näher beschrieben werden.

Für die gekoppelten Feedback-Schleifen konnten im Gegensatz zu den einfachen Feedback-Schleifen auch dann Oszillationen der kontinuierlichen Konzentrationen gefunden werden, wenn im Booleschen Modell kein Zyklus vorliegt, der nur Zustände mit Hamming-Abstand  $h = 1$  aufweist. Die Oszillationen des kontinuierlichen Modells beinhalten dann Zwischenzustände, die im Booleschen Modell als transiente Zustände auftreten. Bei einem Hamming-Abstand  $h = 2$  können beispielsweise jeweils zwei mögliche Zustände vorliegen, die zum nächsten Booleschen Zustand führen, denn die Reihenfolge, welcher Knoten zuerst seinen Zustand ändert, um von einem auf den nächsten Netzwerkzustand zu kommen, ist nicht festgelegt. Die Untersuchung der gekoppelten Feedback-Schleifen hat jedoch gezeigt, dass die Zwischenzustände so ausgewählt werden, dass jener Knoten, der im vorherigen Zeitschritt eine Zustandsänderung erfahren hat, nicht als nächstes seinen Zustand ändert. Ob diese Einführung der Zwischenzustände im kontinuierlichen Modell zu anhaltenden Oszillationen führt, hängt von der Nähe zu Fixpunkten ab: Wenn das Boolesche Modell einen Fixpunkt zusätzlich zu einem Zyklus aufweist, kann einer der Zwischenzustände, die im kontinuierlichen System nötig sind, um Hamming-Abstände  $h > 1$  zu realisieren, gerade dieser Fixpunktzustand sein. Dann wird die kontinuierliche Dynamik an diesem Fixpunkt eingefangen und es kann keine periodische Trajektorie vervollständigt werden. Dies ist z. B. im Fall  $\text{NOT } x \text{ AND } N$  zu beobachten. Im Gegensatz dazu existiert für die Funktion  $x \text{ NOR } N$  kein solcher Fixpunkt, und die Dynamik des kontinuierlichen Modells stimmt qualitativ mit der Booleschen Dynamik überein. Es kann gefolgert werden, dass ein Boolescher Zyklus,

Modul	AND / OR	NOT AND / NOT OR	AND NOT / OR NOT	NOR / NAND	XOR / XNOR
2 Knoten	✓	✗	✗	(✓)	✗
3 Knoten mit Selbstregulation	✓	(✓)	✗	(✓)	✗
3 Knoten mit Quervernetzung	✓	✗	✗	(✓)	(✓)

Tabelle 4: Zusammenfassung der Ergebnisse des Vergleichs von Boolescher und kontinuierlicher Dynamik auf gekoppelten Feedback-Schleifen mit zwei und drei Knoten.

✗ : keine Übereinstimmung der Dynamik

(✓): Qualitative Übereinstimmung bei geeigneter Parameterwahl, Oszillationen zeigen unterschiedliche Zustandsabfolgen.

✓ : Übereinstimmung bei geeigneter Parameterwahl

der durch das Hinzufügen von geeigneten transienten Zuständen zu einem Zyklus mit Hamming-Abstand  $h = 1$  zwischen aufeinanderfolgenden Zuständen werden kann, durch Oszillationen im kontinuierlichen System zu finden ist. Die Oszillationen entsprechen dann diesem modifizierten Zyklus des Booleschen Systems.

In gekoppelten Feedback-Schleifen kann das kontinuierliche Modell auch dann Oszillationen zeigen, wenn im Booleschen Modell kein Zyklus auftritt. Dies ist z. B. für die Funktion  $G_1$  AND NOT  $G_3$  zu beobachten. Bei genauer Betrachtung der kontinuierlichen Dynamik ist zu erkennen, dass aufgrund langsamer Änderungen der Konzentrationswerte ein Knoten, dessen Konzentration dem Booleschen Wert 0 entspricht, noch ausreichend Aktivationspotential haben kann, um eine Änderung des Netzwerkzustands zu bewirken, obwohl sich das System in der Booleschen Dynamik bereits auf einem Fixpunkt befindet. Für die Funktion  $G_1$  AND NOT  $G_3$  ist dieser neue Netzwerkzustand ein transienter Zustand des Fixpunktes. Da alle Zustände, die von diesem transienten Zustand zu dem Fixpunkt führen, jeweils Hamming-Abstand  $h = 1$  haben, ist es diese Abfolge von Zuständen, die vom kontinuierlichen Modell verfolgt wird. Die resultierende Dynamik des kontinuierlichen Modells sind Oszillationen, die den Fixpunkt des Booleschen Modells beinhalten.

#### 3.3 DISKUSSION DER ERGEBNISSE FÜR NETZWERKE MIT GLEICHER TOPOLOGIE

In diesem Teil der Arbeit wurden spezielle Module von Genregulationsnetzwerken untersucht, die aus Genen bestehen, die sich in einer Feedback-Schleife gegenseitig regulieren (Abschnitt 3.1) und durch eine zusätzliche Kante eine gekoppelte Feedback-Schleife bilden können (Abschnitt 3.2). Für diese Netzwerke mit gleicher Topologie, jedoch unterschiedlichen Regulationsfunktionen, wurde die Boolesche Dynamik mit der des kontinuierlichen Modells verglichen, das mit Hilfe einer generalisierten Methode beschrieben wurde. Für das kontinuierliche Modell konnten generelle Bedingungen für das Auftreten einer Hopf-Bifurkation aufgestellt werden, die zu Oszillationen führt. Die relevanten Parameter des Modells sind dabei die Vorzeichen der regulatorischen Interaktionen (Aktivation oder Inhibition), die Steigung der Regulationsfunktion, die durch den Hill-Koeffizient gegeben ist, und das Zeitskalenverhältnis  $\epsilon$  zwischen mRNA- und Protein-Dynamik.

Durch den Vergleich des kontinuierlichen Modells mit verschiedenen regulatorischen Interaktionen mit dem jeweiligen Booleschen Modell, wurde festgestellt, dass das Auftreten eines Zyklus im Booleschen Modell weder notwendig noch ausreichend für das Auftreten von Oszillationen im kontinuierlichen Modell ist. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Mochizuki [18] überein, der große zufällige Netzwerke untersucht hat und zeigen konnte, dass viele der periodischen Oszillationen, die in Booleschen Netzwerken gefunden werden, nicht im kontinuierlichen Modell der Genregulationsnetzwerke auftreten.

Die umfassende Untersuchung der speziellen Module in diesem Teil der Arbeit zeigt zudem, dass es keine einfache Beziehung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik gibt, auch nicht für sehr kleine Netzwerke aus nur zwei oder drei Genen. Der Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik liefert jedoch verschiedene Kriterien für eine gute Übereinstimmung: Aus der Analyse der Netzwerke mit gleichen topologischen Eigenschaften kann gefolgert werden, dass nicht die Größe und die Topologie eines Netzwerks bestimmen, inwieweit Boolesche und kontinuierliche Dynamik übereinstimmen, sondern spezielle dynamische Eigenschaften

des Netzwerks. Ein Kriterium ist der Hamming-Abstand zwischen zwei aufeinanderfolgenden Zuständen einer Trajektorie: Für die betrachteten Netzwerke werden Zyklen, die im Booleschen Modell nur Hamming-Abstände  $h = 1$  aufweisen, auch im kontinuierlichen Modell in Form von Oszillationen der Konzentrationen gefunden. Wenn die Trajektorien Zustandsübergänge mit Hamming-Abständen  $h > 1$  haben, werden im kontinuierlichen System Zwischenzustände eingenommen, die nicht mit einem Fixpunkt des Booleschen Systems übereinstimmen dürfen, damit Oszillationen auftreten.

Ähnliche Ergebnisse wurden von Braunewell und Bornholdt [12] gewonnen, die den Zellzyklus von Hefe untersucht haben, und verschiedene Kriterien für Robustheit der Dynamik gegenüber Fluktuationen in den Aktualisierungszeiten aufstellen konnten. Sie heben ebenfalls die Bedeutung von solchen Übergängen zwischen Zuständen hervor, in denen nur ein Knoten seinen Zustand ändert, d.h. Zustände mit Hamming-Abstand  $h = 1$ . Die Autoren weisen außerdem darauf hin, dass die Dauer der Zustände der einzelnen Knoten, also wie lange ein Gen am Stück an oder aus ist, nicht zu kurz sein darf, um robuste Trajektorien zu erhalten. Dies entspricht unserem Ergebnis, dass Zwischenzustände, die im kontinuierlichen System gebraucht werden, so gewählt werden, dass die Knoten nicht zweimal innerhalb zwei aufeinanderfolgender Zeitschritte ihren Zustand ändern.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Robustheit gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge eine wichtige Voraussetzung dafür ist, dass Oszillationen des Booleschen und kontinuierlichen Modells miteinander übereinstimmen. Diese Schlussfolgerung wird gestützt durch die Betrachtung biologischer Netzwerke, die erfolgreich durch eine Boolesche Idealisierung beschrieben werden. Ein Beispiel für ein solches System ist das Netzwerk des Zellzyklus der Bäckerhefe, das von Li et al. [5] mit Booleschen Funktionen modelliert wurde. Die wichtigste dynamische Trajektorie des Systems verändert sich nur wenig, wenn die Knoten in einer beliebigen Reihenfolge aktualisiert werden und das System kehrt nach einer Störung schnell zu dieser Trajektorie zurück. Das Netzwerk des Zellzyklus in Hefe besteht aus 11 Knoten, die robuste Trajektorie umfasst 13 Zustände und sie zeigt sieben Übergänge zwischen Zuständen bei denen nur ein Knoten seinen

Zustand ändert, d.h. deren Hamming-Abstand  $h = 1$  ist. Drei Übergänge weisen einen Hamming-Abstand von  $h = 2$  auf, und drei Übergänge haben Hamming-Abstand  $h = 3$ . Für diese Übergänge zwischen Zuständen mit  $h > 1$  können Zwischenzustände festgelegt werden, die für das kontinuierliche System gebraucht würden, um Oszillationen zu erzeugen. Es zeigt sich, dass diese Zwischenzustände derart aus den möglichen transienten Zuständen der Trajektorie gewählt werden müssen, dass kein Knoten seinen Zustand ändert, der im letzten Zeitschritt aktualisiert wurde, damit das System nicht auf einen Fixpunkt läuft.

Das wichtigste Ergebnis der Untersuchung der Feedback-Schleifen ist, dass der Hamming-Abstand zwischen aufeinanderfolgenden Zuständen einer Trajektorie ein wesentliches Kriterium für die Übereinstimmung von Boolescher und kontinuierlicher Dynamik darstellt. Dieses soll im folgenden Kapitel weiter untersucht werden: Im Gegensatz zu diesem Teil der Arbeit, in dem spezielle Module mit fester Topologie und unterschiedlichen Funktionen betrachtet wurden, werden im nächsten Kapitel verschieden große Netzwerke unterschiedlicher Topologie mit gleichen dynamischen Eigenschaften analysiert. Die betrachteten Netzwerke haben Trajektorien, die im Booleschen Modell nur Hamming-Abstand  $h = 1$  zwischen benachbarten Zuständen aufweisen und damit als *vollständig zuverlässig* bezeichnet werden [20].



## UNTERSUCHUNG VON NETZWERKEN MIT GLEICHEN DYNAMISCHEN EIGENSCHAFTEN

---

Aus den Ergebnissen von Kapitel 3, der Untersuchung einfacher und gekoppelter Feedback-Schleifen, konnten Aussagen darüber getroffen werden, dass nicht die Größe und Topologie eines Netzwerks die Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik bestimmen, sondern spezielle dynamische Eigenschaften, wie die Robustheit gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge der Knoten. Aus diesem Grund werden in diesem zweiten Ergebnis-Kapitel Netzwerke mit gleichen dynamischen Eigenschaften untersucht: Die Zyklen der betrachteten Netzwerke sind im Booleschen Modell robust gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge. Für diese Netzwerke wird die Dynamik in das kontinuierliche Modell übersetzt, die resultierenden Oszillationen werden analysiert und mit den Booleschen Trajektorien verglichen.

### 4.1 EINFÜHRUNG IN NETZWERKE MIT ZUVERLÄSSIGEN TRAJEKTORIEN

Die Funktion vieler biologischer Systeme beruht auf der korrekten Ausführung aller dynamischen Zustände, und ein Netzwerk muss bestimmte Eigenschaften aufweisen, die dies garantieren [20]. Die generellen Prinzipien, die für das robuste Verhalten verantwortlich sind, wurden bisher noch nicht vollständig identifiziert [12], obwohl dynamische Robustheit bereits für verschiedenste biologische Systeme untersucht wurde [66, 116, 117, 118, 119]. Die meisten dieser Studien konzentrieren sich dabei auf zwei Typen von Störungen: Zum einen Rauschen, das direkt die Aktivierungszustände individueller Knoten eines Systems beeinflusst [20, 61, 120, 121, 122, 123, 124] und zum anderen Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge der Knoten [12, 20, 125, 126, 127].

Der vielleicht einfachste Weg diese Frage anzugehen, ist die Betrachtung minimaler Modelle, deren zugrundeliegende Dynamik bestimmte Eigenschaften aufweist. Für den Booleschen Model-

lierungsansatz konnten Peixoto und Drossel [20] zeigen, dass es möglich ist, Netzwerke zu konstruieren, die *vollständig zuverlässig* sind gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge der einzelnen Knoten. Solche Netzwerke erzeugen die exakt gleiche Abfolge von Zuständen, unabhängig von der Reihenfolge in der die Knoten aktualisiert werden. Dies wird dadurch erreicht, dass Trajektorien erzeugt werden, deren aufeinanderfolgende Zustände sich nur im Wert eines Knotens unterscheiden, d.h. ihre Zustände haben einen *Hamming-Abstand*  $h = 1$ .

Obwohl die dynamischen Eigenschaften der zuverlässigen Trajektorien ein generelles zugrundeliegendes Prinzip andeuten, das Robustheit gewährleistet, ist dieses Zuverlässigkeitskriterium an die Boolesche Beschreibung des Systems gebunden. Im Gegensatz dazu können biologische Systeme realistischer durch *kontinuierliche* Variablen beschrieben werden, die die Konzentrationen der mRNAs und Proteine repräsentieren und detailliertere Informationen über die Prozesse der Transkription und Translation enthalten (siehe Abschnitt 2.3). Die resultierende Dynamik solcher Modelle mit gewöhnlichen Differentialgleichungen ist bisher nicht so gut untersucht, wie die der diskreten Modelle [18] und wie im ersten Teil dieser Arbeit gezeigt wurde, gibt es selbst für sehr kleine Netzwerke aus nur zwei oder drei Genen keine klaren Regeln, wann die kontinuierliche Dynamik qualitativ mit der des Booleschen Modells übereinstimmt. Aus diesem Grund ist auch unklar, ob und zu welchem Grad das Boolesche Kriterium für Zuverlässigkeit der Trajektorien auf das kontinuierliche Modell des Systems zutrifft.

Glass et al. [126] haben Systeme mit vollständig zuverlässiger Dynamik für kleine Netzwerke (mit höchstens  $N = 5$  Knoten) untersucht und konnten zeigen, dass für diese die Boolesche und kontinuierliche Beschreibung mit geeigneten Regulationsfunktionen eine zusammenpassende Dynamik aufweisen. Perkins et al. [128] haben eine vollständig zuverlässige Trajektorie des Zellzyklus in Hefe analysiert und konnten damit ein minimales Netzwerk konstruieren, dessen Struktur nahezu der experimentell vorhergesagten Topologie entspricht. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass durch eine Approximation der Booleschen Funktionen durch angemessene kontinuierliche nichtlineare sigmoidale Funktionen die wichtigsten Eigenschaften der Dynamik erhalten bleiben. Verglichen mit Peixoto



und Drossel [20] haben Glass und Perkins jedoch zusätzlich zur Bedingung, dass die Dynamik vollständig zuverlässig sein muss, striktere Einschränkungen an die Dynamik des Netzwerks und den Zustandsraum: z. B. ist eine Selbstregulation der Knoten verboten, und Zustände, die sich um den Wert eines Knotens von einem Zustand der zyklischen Trajektorie unterscheiden, müssen als transiente Zustände direkt auf die Trajektorie führen.

In diesem Teil der Arbeit wird die kontinuierliche Dynamik solcher Netzwerke untersucht, die im Booleschen Modell vollständig zuverlässige Trajektorien mit Hamming-Abstand  $h = 1$  aufweisen. Die Boolesche Dynamik wird unter Verwendung von sigmoidalen Hill-Funktionen und HillCubes (siehe Abschnitt 2.3.2) in kontinuierliche Differentialgleichungen übersetzt und die resultierenden Zeitreihen des kontinuierlichen Systems werden analysiert. Es werden jedoch keine speziellen individuellen Netzwerke betrachtet, sondern ein ganzes Ensemble von tausenden Netzwerken verschiedener Größe mit Trajektorien unterschiedlicher Länge. Die Ergebnisse dieser Untersuchung werden mit den entsprechenden Ergebnissen für Trajektorien mit steigenden Hamming-Abständen zwischen aufeinanderfolgenden Zuständen verglichen. Damit kann die Relevanz des Zuverlässigkeitskriteriums und der Einfluss des Hamming-Abstands auf die Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik bestimmt werden. Die Ergebnisse dieses Teils der Arbeit sind in Zusammenarbeit mit Tiago P. Peixoto und Barbara Drossel entstanden und werden in der Zeitschrift *New Journal of Physics* [129] veröffentlicht.

In Abschnitt 4.2 werden die zuverlässigen Trajektorien im Booleschen Modell, die Übersetzung ins kontinuierliche Modell sowie die Methode zum Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik vorgestellt. Abschnitt 4.3.1 zeigt die Ergebnisse des Vergleichs von Boolescher und kontinuierlicher Dynamik für vollständig zuverlässige Trajektorien mit Hamming-Abstand  $h = 1$ . Diese werden in Abschnitt 4.3.2 mit der Untersuchung der Trajektorien mit steigendem mittleren Hamming-Abstand verglichen. In Abschnitt 4.4 werden die Kriterien für eine gute Übereinstimmung des Booleschen und kontinuierlichen Modells diskutiert und in Bezug zu bestehenden Studien gesetzt.

## 4.2 ZUVERLÄSSIGE TRAJEKTORIEN

## 4.2.1 Boolesches Modell

Netzwerke können unterschiedlich auf Stochastizität in der Aktualisierungsreihenfolge antworten: Das System kann die Erinnerung an die letzten Zustände verlieren, oder es kann trotz der zeitlichen Störung einen gewissen Grad an Ordnung haben und eine definierte Trajektorie im Zustandsraum beibehalten. Insbesondere kann verlangt werden, dass das System eine *vollständig zuverlässige Dynamik* besitzt, für die die Abfolge der Zustände immer auf der selben Trajektorie ist, egal in welcher Reihenfolge die Knoten aktualisiert werden [20]. Für vollständig zuverlässige Trajektorien unterscheiden sich die aufeinanderfolgenden Netzwerkzustände jeweils nur im Wert eines Knotens. Das bedeutet, sie haben einen Hamming-Abstand  $h = 1$  (siehe Abschnitt 2.4.3). Da dadurch für jeden Zustand nur ein einziger möglicher nachfolgender Zustand existiert, werden diese Trajektorien selbst bei Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge im Zustandsraum durch einfache Ringe repräsentiert (siehe Abbildung 30).

Peixoto und Drossel [20] haben sich auf diese vollständig zuverlässigen Trajektorien konzentriert und ein inverses Problem gelöst, indem erst die Dynamik definiert wurde, d.h. eine periodische Trajektorie vorgegebener Länge mit  $h = 1$ , und daraus anschließend die Topologie und die Aktualisierungsfunktionen des Booleschen Netzwerks bestimmt wurden. Da mehrere Netzwerke die selbe Trajektorie haben können, wählten sie *minimale Netzwerke* aus, die die kleinstmögliche Zahl an Eingängen pro Knoten und die einfachsten Aktualisierungsfunktionen (maximale Anzahl an identischen Einträgen in der Funktion) aufweisen. Darauf aufbauend generierten sie ein Ensemble von minimalen Netzwerken, das durch zwei Parameter charakterisiert wird: Die Anzahl der Knoten  $N$  der Netzwerke und die Länge  $L$  der Trajektorien. Die Länge der Trajektorie, d.h. die Zahl der Zustände der periodischen Zustandsabfolge, ist  $L = \sum_i^N l_i$ , wobei  $l_i$  beschreibt, wie oft ein Knoten  $i$  seinen Zustand während einer Periode ändert. Wenn gefordert wird, dass jeder Knoten mindestens einmal seinen Zustand ändern muss, ist die kürzeste Länge einer Trajektorie  $L = 2N$  mit  $l_i = 2$  für jeden Knoten. Wenn dagegen alle Netzwerkzustände des Zustandsraum besucht werden, liegt eine längstmögliche Trajektorie mit  $L = 2^N$  Zuständen vor.

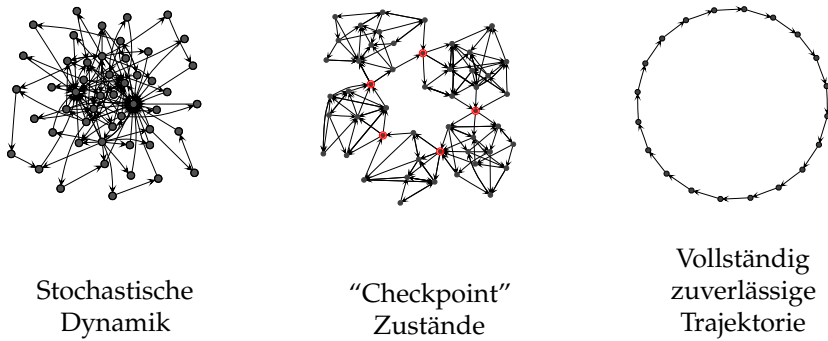


Abbildung 30: Mögliche dynamische Antworten eines Systems auf Stochastizität in der Aktualisierungsreihenfolge [20].

#### 4.2.2 Übersetzung in das kontinuierliche Modell

Um die Dynamik der zuverlässigen Booleschen Trajektorien mit der Dynamik des entsprechenden kontinuierlichen Modells zu vergleichen, wird von den minimalen Netzwerken ausgegangen, die Peixoto und Drossel für die Booleschen zuverlässigen Trajektorien gefunden haben. Damit sind die Topologie des Netzwerks, d. h. die Information darüber, welche Knoten sich gegenseitig regulieren, und die zugehörigen Booleschen Funktionen festgelegt. Zusätzlich ist die zuverlässige Trajektorie des Netzwerks bekannt, d. h. die genaue Abfolge der Zustände des Zyklus. Damit kann das Boolesche Modell in ein kontinuierliches Modell übersetzt werden, indem die gewöhnlichen Differentialgleichungen für die mRNA- und Protein-Konzentrationen wie in Abschnitt 2.3 beschrieben aufgestellt werden. Als Regulationsfunktionen werden die entsprechenden Kombinationen von Hill-Funktionen als HillCubes gewählt, die den Booleschen Funktionen entsprechen (siehe Abschnitt 2.3.2).

Da es sich nun um größere Netzwerke aus 10 bis 50 Knoten handelt, und die genaue Abfolge der Zustände der Oszillationen des kontinuierlichen Systems untersucht werden soll, wird im Gegensatz zum vorherigen Kapitel keine lokale Stabilitätsanalyse mit Hilfe der generalisierten Methode durchgeführt, sondern die Zeitreihen der Systeme werden analysiert. Aus diesem Grund werden die Differentialgleichungen mit einem Runge-Kutta-Verfahren numerisch gelöst und die resultierenden Zeitreihen mit den Booleschen Trajektorien verglichen. Für die Simulationen, deren Ergebnisse in den fol-

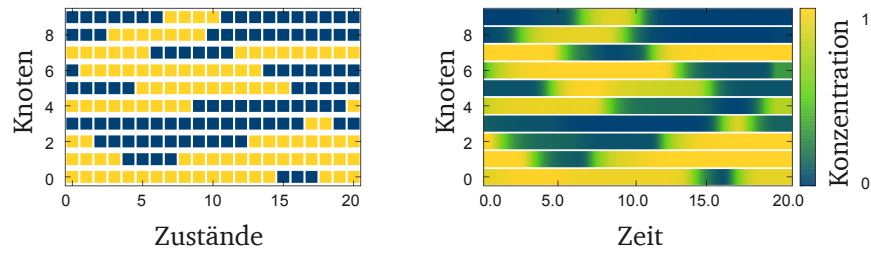


Abbildung 31: Vergleich der zuverlässigen Trajektorie der Länge  $L = 20$  eines Netzwerks mit  $N = 10$  Knoten im Booleschen Modell (links) mit den Oszillationen des kontinuierlichen Modells (rechts) mit Hill-Koeffizient  $n = 4$ .

genden Abschnitten gezeigt werden, sind die Parameterwerte für die Differentialgleichungen (siehe Gleichung (1) in Abschnitt 2.3.1)  $\gamma_i = \delta_i = \omega_i = m_i = \epsilon_i = 1$  und  $\theta_i = 0,5$ , wobei  $\gamma$  bzw.  $\delta$  die Zerfallsraten und  $\omega$  bzw.  $m$  die maximalen Translations- und Transkriptionsraten der mRNAs und Proteine darstellen.  $\epsilon$  beschreibt das Zeitskalenverhältnis zwischen mRNA- und Protein-Dynamik und  $\theta$  ist der Schwellwert der Hill-Funktion.

#### 4.2.3 Methode zum Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Trajektorien

Zur Veranschaulichung der Methode zum Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Trajektorien wird zunächst ein Beispiel eines Netzwerks mit vollständig zuverlässiger Trajektorie gezeigt und visuell mit der Zeitreihe der kontinuierlichen Version des Netzwerks verglichen. Auf der rechten Seite von Abbildung 31 ist die Zeitreihe der Konzentrationen der verschiedenen Knoten des kontinuierlichen Systems zu sehen. Die verschiedenen Farben stellen die unterschiedlichen Konzentrationswerte dar, von 0.0 (blau), über 0.5 (grün) zu 1.0 (gelb). Dieser zeitliche Verlauf kann mit der Booleschen Zustandsabfolge auf der linken Seite von Abbildung 31 verglichen werden, die diskrete Zeitschritte und nur zwei verschiedene Konzentrationswerte aufweist: 0 und 1 (blau bzw. gelb). Anhand Abbildung 31 ist zu erkennen, dass nach einer kurzen Einschwingzeit des kontinuierlichen Systems eine sehr gute Übereinstimmung der verschiedenen Zustände der Booleschen Trajektorie mit den Konzentrationen der kontinuierlichen Oszillation vorliegt.

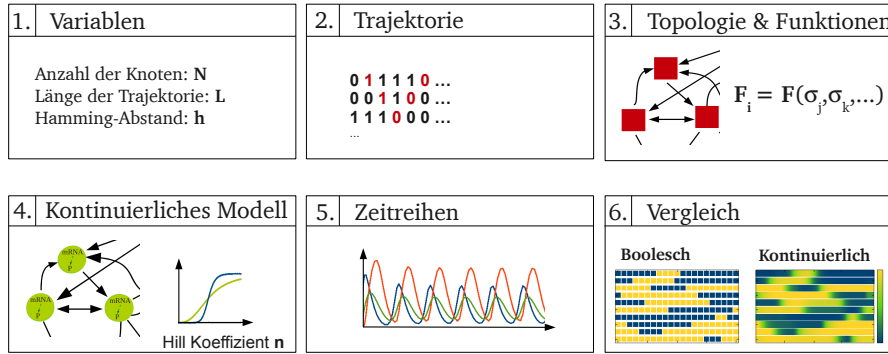


Abbildung 32: Methode zum Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik für Netzwerke mit zuverlässigen Trajektorien.

Um diesen Vergleich der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik systematisch für verschiedene Werte des Hill-Koeffizienten und tausende Netzwerke durchzuführen, wird ein Algorithmus verwendet, der im Folgenden näher beschrieben wird und in Abbildung 32 dargestellt ist.

1. Zuerst werden die Parameter der betrachteten Netzwerke festgelegt: zum einen die Anzahl der Knoten  $N$  und zum anderen die Länge der Trajektorien  $L$ . Zudem kann für die Untersuchung des Einflusses des Hamming-Abstands auf die Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik auch der mittlere Hamming-Abstand  $h$  der Trajektorien variiert werden.
2. Für jede Kombination von  $N$  (Anzahl der Knoten),  $L$  (Länge der Trajektorie) und  $h$  (mittlerer Hamming-Abstand) wird ein Ensemble von Booleschen Trajektorien generiert.
3. Die Topologie und die Booleschen Aktualisierungsfunktionen der minimalen Netzwerke, die diese Trajektorien erzeugen, werden dann mit Hilfe des Algorithmus bestimmt, der in [20] beschrieben ist.
4. Die minimalen Booleschen Netzwerke werden unter der Verwendung von Hill-Funktionen und HillCubes in kontinuierliche Differentialgleichungen übersetzt. Dabei wird mit einem hohen Hill-Koeffizient  $n = 10$  gestartet.
5. Die Differentialgleichungen werden numerisch integriert. Als Anfangswert der Simulation wird ein Boolescher Netzwerkzu-

stand der zuverlässigen Trajektorie gewählt, d.h. die Konzentrationen der mRNAs und Proteine haben Werte von 0 oder 1, abhängig vom gewählten Startwert. Nach einer kurzen Einschwingzeit wird die kontinuierliche Dynamik in zwei Schritten zurück in Boolesche Zustände übersetzt: Erst wird für jeden Knoten der maximale und minimale Konzentrationswert bestimmt, und der Mittelwert als individueller Schwellwert dieses Knotens definiert. Zusätzlich wird für jeden Knoten ein Schwellwertbereich festgelegt, um zu verhindern, dass minimale Oszillationen um den Schwellwert als Zustandsänderung eines Knotens gezählt werden. Die Grenzen dieses Bereichs liegen bei  $\pm 10\%$  des Schwellwerts eines Knotens. Im zweiten Schritt wird die gesamte kontinuierliche Zeitreihe in eine diskrete Zustandsabfolge übersetzt, indem sie in kleinen Zeitintervallen abgetastet wird: Hat ein Knoten einen Konzentrationswert oberhalb der oberen Grenze des individuellen Schwellwertbereichs, so wird das Gen als „an“ (1) angesehen, und wenn der Knoten einen Wert unterhalb der unteren Schwellwertgrenze hat, so wird er als „aus“ (0) markiert. Wenn die Konzentration des Knotens innerhalb des Schwellwertbereichs liegt, wird ihm der vorherige Zustand zugewiesen. Das Abtasten der Zeitreihe wird gestoppt, wenn der erste Zustand der Abfolge wieder erreicht wird, da auf diesem Weg eine geschlossene Trajektorie gefunden werden kann. In der Booleschen Zustandsabfolge, die auf diesem Weg aus der kontinuierlichen Zeitreihe entsteht, tritt jeder Zustand mehrere Male hintereinander auf, bevor er durch einen Zustand ersetzt wird, der sich im Wert eines Knotens unterscheidet, da in der kontinuierlichen Zeitreihe nicht zu jedem Zeitpunkt die Konzentration eines Knotens einen Schwellwert durchquert. Solche Wiederholungen des selben Zustands werden aus der endgültigen Trajektorie eliminiert, wodurch Informationen darüber, wie lange bestimmte Zustände im kontinuierlichen Modell auftreten, verworfen werden. Es wird lediglich die Abfolge der Zustände gespeichert, die dann mit der Trajektorie des Booleschen Modells verglichen werden kann.

6. Die beiden Trajektorien sollten übereinstimmen, wenn das kontinuierliche Modell in der Lage ist, die Boolesche Dynamik zu reproduzieren (und anderes herum). Für diesen Vergleich wird erst die Länge der Trajektorie abgefragt, d.h. die Anzahl der Zustände des Attraktors, dann die Zustände selbst und schließ-

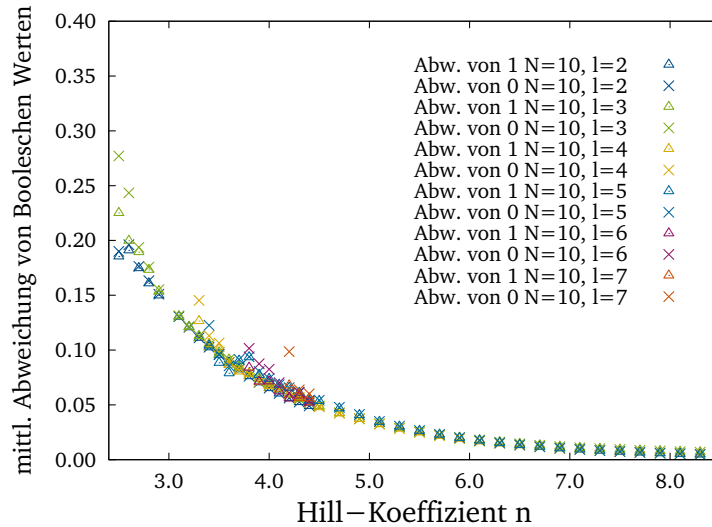


Abbildung 33: Abweichung der kontinuierlichen Konzentrationen von den Booleschen Werten 0 und 1 abhängig vom Hill-Koeffizienten  $n$  für verschiedene Trajektorienlängen und  $N = 10$ .

lich die genaue Reihenfolge, in der sie auftreten. Nur wenn alle diese Kriterien übereinstimmen, wird angenommen, dass die Trajektorie des Booleschen Netzwerks durch die entsprechende kontinuierliche Dynamik in Form von Differentialgleichungen reproduziert wird, d. h. dann stimmen die Boolesche und kontinuierliche Trajektorie überein. Wenn die Trajektorien nur zum Teil zusammenpassen, da sie z. B. die gleichen Zustände in ver-  
 tauschter Reihenfolge aufweisen, wird das Netzwerk nicht als Übereinstimmung gewertet.

Im nächsten Teil der Untersuchung wird der Wert des Hill-Koeffizienten  $n$  in Schrittgrößen von 0,2 verringert. Als Anfangswert für die kontinuierliche Simulation wird nun ein Zustand der Trajektorie gewählt, der mit dem vorhergehenden Wert von  $n$  berechnet wurde, da für kleiner werdende Hill-Koeffizienten die Abweichung der kontinuierlichen Konzentrationen von den Booleschen Werten 0 und 1 immer mehr zunimmt (siehe Abbildung 33). Auf diese Weise kann die Simulation in der Nähe des Attraktors gestartet werden und die Dynamik des kontinuierlichen Modells kann mit immer kleiner werdenden Hill-Koeffizienten im Bereich  $n \in \{10, \dots, 0\}$  in kleinen Schritten untersucht und mit dem Booleschen Zyklus verglichen werden.

Der beschriebene Algorithmus (siehe Abbildung 32) wird für die minimalen Netzwerke tausender zuverlässiger Trajektorien wiederholt. Ausgewertet wird die Anzahl an Realisierungen, für die das Boolesche und kontinuierliche Modell übereinstimmen, abhängig vom Hill-Koeffizienten  $n$ , der Anzahl der Knoten im Netzwerk  $N$  und der Länge der Trajektorie  $L$ .



### 4.3 ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG VON NETZWERKEN MIT ZUVERLÄSSIGEN TRAJEKTORIEN

#### 4.3.1 *Ergebnisse der vollständig zuverlässigen Trajektorien*

Abbildung 34 und Abbildung 35 zeigen den Anteil an Netzwerken, für den die vollständig zuverlässigen Trajektorien (Hamming-Abstand  $h = 1$ ) des Booleschen Modells mit den kontinuierlichen Oszillationen übereinstimmen, abhängig vom Hill-Koeffizienten  $n$ , für verschiedene Größen der Netzwerke (Abbildung 34) und verschiedenen Längen der Trajektorien (Abbildung 35). Fast alle Trajektorien mit Hamming-Abstand  $h = 1$  zeigen eine perfekte Übereinstimmung zwischen dem Booleschen und kontinuierlichen Modell für Systeme mit Hill-Koeffizienten um  $n = 4,5$ . Diese gute Übereinstimmung zeigt sich sowohl für kleine Netzwerke mit nur 10 Knoten und Trajektorien der Länge  $L = 20$ , als auch für größere Netzwerke mit bis zu 50 Knoten und 100 Zuständen. Für  $n = 3$  reproduzieren etwa 30% der Netzwerke mit  $N = 10$  und ca. 5% der Netzwerke mit  $N = 15$  (jeweils mit  $L = 2N$ ) die richtige Trajektorie, doch für größere Netzwerke ist für kleine Hill-Koeffizienten um  $n = 3$  der Anteil der übereinstimmenden Zustandsabfolgen verschwindend gering. Zusätzlich zu verschiedenen Netzwerkgrößen wurden auch längere Trajektorien untersucht (siehe Abbildung 35). Dabei erreicht der Anteil der Trajektorien, für den die Boolesche und kontinuierliche Dynamik übereinstimmt, 100% mit Hill-Koeffizienten zwischen  $n = 4$  und  $n = 6,6$  für Trajektorien mit Längen von 20 bis 70 Zuständen und  $N = 10$ .

Wenn die kontinuierliche Oszillation nicht mit der Booleschen Trajektorie übereinstimmt, obwohl die Hill-Koeffizienten recht groß sind, treten z. B. Zustände in der falschen Reihenfolge auf. Dies passiert wenn ein Knoten seinen Zustand ändert, bevor der eigentliche Knoten, der zu diesem Zeitschritt den Schwellwert überqueren sollte, diesen erreicht, da seine Konzentration noch zu weit entfernt ist. Diese Fehler verschwinden mit noch größeren Hill-Koeffizienten, da die Konzentrationen die Schwellwerte mit steileren Regulationsfunktionen schneller erreichen. Für kleine Hill-Koeffizienten ist häufig keine Übereinstimmung zwischen dem Booleschen und kontinuierlichen Modell zu beobachten, da die Dynamik des kontinuierlichen Systems eher auf einem Fixpunkt endet, als periodische Trajektorien zu zeigen.

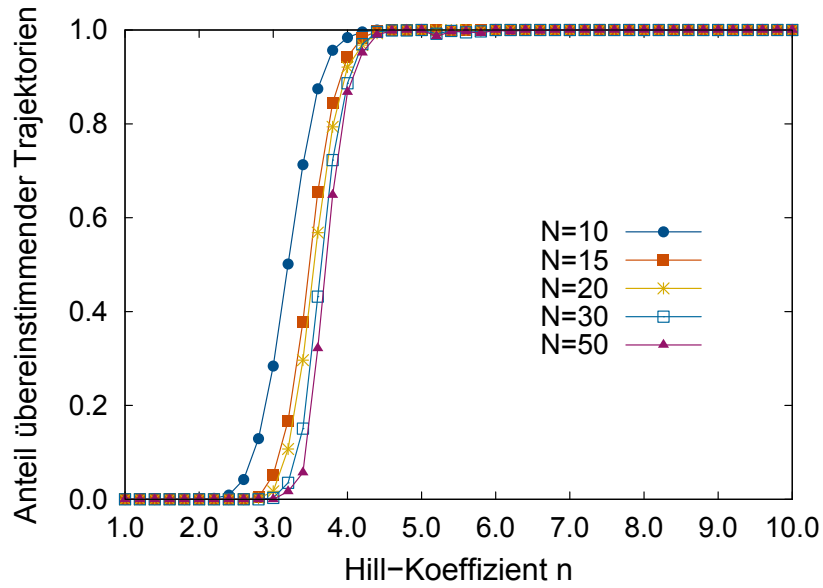


Abbildung 34: Anteil der vollständig zuverlässigen Trajektorien, die eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zeigen, aufgetragen über dem Hill-Koeffizienten  $n$  der kontinuierlichen Regulationsfunktionen für verschiedene Größen  $N$  der Netzwerke mit  $L = 2N$ .

Wächst entweder die Größe des Netzwerks oder die Länge der Trajektorien weiter an, so sollten die Hill-Koeffizienten, die gebraucht werden, um für alle Netzwerke eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen vollständig zuverlässigen Trajektorie und den kontinuierlichen Oszillationen zu erreichen, größer werden, da die Wahrscheinlichkeit für Fehler steigt, wenn eine Trajektorie mehr Zustände enthält.

Abbildung 34 und Abbildung 35 zeigen die Ergebnisse für den Fall, dass die Zeitskalen von mRNA- und Protein-Dynamik gleich sind, d.h.  $\epsilon = 1$  (siehe Abschnitt 2.3.1). Im Fall, dass die Dynamik der mRNAs sehr viel schneller abläuft ( $\epsilon \approx 100$ ), wird das System auf  $N$  Gleichungen statt  $2N$  reduziert, da die Konzentrationen der mRNAs immer genug Zeit haben einen Gleichgewichtszustand zu erreichen, der den aktuellen Protein-Konzentrationen entspricht. Da dadurch die Zeitverzögerung zwischen den Zustandsänderungen der Knoten verringert wird, werden für eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik höhere Werte des Hill-Koeffizienten  $n$  benötigt. Weiterhin kann die maximale Transkriptionsrate  $m_i$  variiert werden, doch dies zeigt für  $m_i \in \{1, \dots, 5\}$  keine merklichen Unterschiede, da sich sowohl

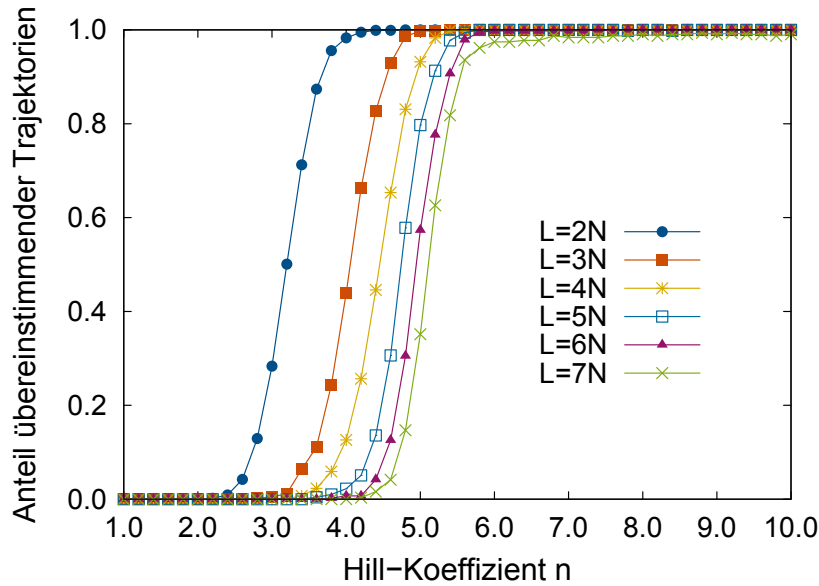


Abbildung 35: Anteil der vollständig zuverlässigen Trajektorien, die eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zeigen, aufgetragen über dem Hill-Koeffizienten  $n$  der kontinuierlichen Regulationsfunktionen für unterschiedliche Längen  $L$  der Trajektorien und  $N = 10$ .

die Maxima der Transkription, aber auch die daraus berechneten Schwellwerte verändern. Die Variation der maximalen Transkriptionsrate erweitert damit lediglich den Bereich der auftretenden kontinuierlichen Konzentrationswerte, nicht jedoch das qualitative dynamische Verhalten.

Um zu untersuchen, ob die gute Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik der Netzwerke mit vollständig zuverlässigen Trajektorien darauf basiert, dass die Zustandsabfolgen nur Hamming-Abstände  $h = 1$  haben, soll der mittlere Hamming-Abstand  $h$  der Trajektorien in kleinen Schritten erhöht werden. Trajektorien mit  $h > 1$  werden im Folgenden als *partiell zuverlässige* Trajektorien bezeichnet.

4.3.2 *Ergebnisse der partiell zuverlässigen Trajektorien*

Partiell zuverlässige Trajektorien haben einen mittleren Hamming-Abstand  $h > 1$ , wobei  $h$  nun definiert ist, als die Summe der individuellen Hamming-Abstände  $h_i$  zwischen zwei aufeinanderfolgenden Zuständen, geteilt durch die Anzahl  $L$  der Netzwerkzustände der Booleschen Trajektorie bei paralleler Aktualisierung:

$$h = \frac{1}{L} \sum_{i=1}^L h_i.$$

Für die Untersuchung der partiell zuverlässigen Trajektorien wurde der für die vollständig zuverlässigen Trajektorien entworfene Algorithmus [20] angepasst, um ein Ensemble von minimalen Booleschen Netzwerken zu erzeugen. Für diese Netzwerke mit steigendem mittleren Hamming-Abstand wird ebenfalls die in Abschnitt 4.2.3 beschriebene Methode verwendet, um die Boolesche und kontinuierliche Dynamik zu vergleichen (siehe Abbildung 32): Nach der Übersetzung des Netzwerks in das kontinuierliche Modell und der Simulation der Differentialgleichungen wird der Anteil der Netzwerke gemessen, der für das Boolesche und kontinuierliche Modell übereinstimmende Trajektorien zeigt.

Ein mittlerer Hamming-Abstand  $h > 1$  bedeutet, dass im Booleschen Modell bei einigen Zustandsübergängen der Trajektorie mehrere Knoten ihren Zustand zur gleichen Zeit ändern. Aus diesem Grund wird geprüft, ob diese Knoten während der kontinuierlichen Oszillation ihre Schwellwerte direkt nacheinander durchqueren, da im kontinuierlichen Modell nie mehrere Knoten gleichzeitig ihre Schwellwerte erreichen. Die Reihenfolge der Zustandsänderungen der Knoten ist dabei nicht relevant, da diese nicht durch das Boolesche System mit paralleler Aktualisierung vorgegeben ist und auch im Booleschen Modell jede Reihenfolge auftreten kann, wenn eine stochastische Aktualisierung implementiert wird.

Abbildung 36 zeigt die Ergebnisse der Untersuchung partiell zuverlässiger Trajektorien mit steigendem mittleren Hamming-Abstand. Der Anteil der Netzwerke, der die vorgegebene Boolesche Trajektorie im kontinuierlichen Modell reproduziert, steigt wie für die vollständig zuverlässigen Trajektorien mit dem Hill-Koeffizienten  $n$  an. Für die Trajektorien mit  $h > 1$  nähert sich der Anteil jedoch asymptotisch einem Wert an, der kleiner als 1 ist. Dieser asymptotische Wert

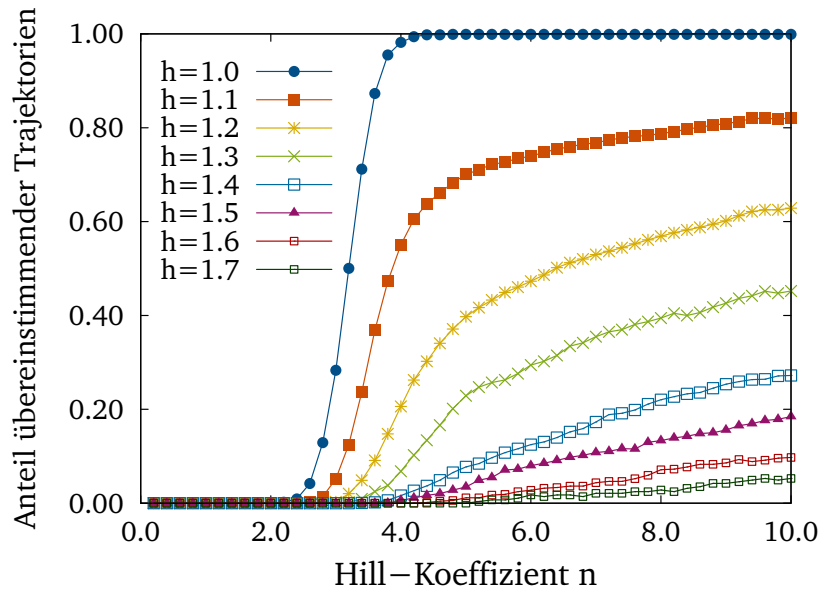


Abbildung 36: Anteil der partiell zuverlässigen Trajektorien, die eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zeigen, aufgetragen über dem Hill-Koeffizienten  $n$  der kontinuierlichen Regulationsfunktionen bei Variation des mittleren Hamming-Abstands  $h$  (für Netzwerke mit  $N = 10$  und  $L = 20$ ).

ist umso kleiner, je größer der mittlere Hamming-Abstand  $h$  der betrachteten Trajektorien ist. Es wurde ebenfalls die Auswirkung der Netzwerkgröße und der Trajektorienlänge untersucht: Es zeigt sich, dass der Anteil der zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik übereinstimmenden Trajektorien, der bei großen Hill-Koeffizienten erreicht wird, sowohl für größere Netzwerke als auch für längere Trajektorien sinkt. Dies kann erneut damit erklärt werden, dass die Wahrscheinlichkeit für Fehler steigt, wenn eine Trajektorie mehr Zustände hat.

Im Folgenden sollen die Gründe untersucht werden, warum ein Teil der Booleschen Trajektorien mit  $h > 1$  selbst für große Wert der Hill-Koeffizienten  $n$  nicht durch das kontinuierlichen Modell reproduziert wird. Wenn solche Netzwerke, die keine Übereinstimmung zeigen, genauer betrachtet werden, zeigt sich, dass sie in zwei Klassen unterteilt werden können:

- Das kontinuierliche Modell zeigt Oszillationen, die nicht mit der Booleschen Trajektorie übereinstimmen, z. B. weil Zustände in der falschen Reihenfolge vorkommen. Diese Unterschiede

sind klein und könnten verschwinden, wenn die Parameter des kontinuierlichen Modells anders gewählt würden.

- Das kontinuierliche Modell zeigt keine Oszillationen, und die Dynamik endet auf einem Fixpunkt. Diese Fixpunkte können in weitere zwei Klassen unterteilt werden: *Reguläre Fixpunkte*, deren Konzentrationswerte für genügend große Werte der Hill-Koeffizienten  $n$  nahe der Booleschen Werte 0 und 1 liegen, und *Schwellwert-Fixpunkte* [86, 130, 131, 132], bei denen ein oder mehrere Knoten Konzentrationswerte in der Nähe ihrer Schwellwerte haben, und die aus diesem Grund nicht mit dem Booleschen Modell übereinstimmen können.

Die Untersuchung, in welchen Fällen Schwellwert-Fixpunkte auftreten zeigt, dass ein Kriterium besonders relevant ist, das sowohl die Topologie, als auch die dynamischen Eigenschaften der Netzwerke betrifft: Wenn ein Knoten durch eine Selbstregulation (*Topologie*) im Booleschen System mit paralleler Aktualisierung in zwei direkt aufeinanderfolgenden Zeitschritten (*Dynamik*) jeweils seinen Zustand ändert, ist es für das kontinuierliche Modell oft nicht möglich, eine komplette Aktivierung und Inhibierung (oder andersherum) auszuführen, wodurch die Konzentrationswerte in der Nähe des Schwellwerts gefangen sind.

#### *Einfluss von Zustandsdauer und Selbstregulation der Knoten*

Die Vermutung, dass kurze Zustandsdauern einzelner Knoten durch eine Selbstregulation zu einem Widerspruch zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik führen, soll im Folgenden überprüft werden. Aus diesem Grund wird die Verteilung der Netzwerke auf die vier genannten Typen des dynamischen Verhaltens analysiert: Abbildung 37 zeigt für  $n = 10$  und für verschiedene Werte des mittleren Hamming-Abstands  $h$  die Anteile der Netzwerke mit  $N = 10$  und  $L = 20$ , die die Boolesche Trajektorie reproduzieren, die eine andere Oszillation zeigen, die einen regulären Fixpunkt haben und die einen Schwellwert-Fixpunkt aufweisen. Die grauen Balken auf der linken Seite der Abbildung zeigen zusätzlich den Anteil jener Netzwerke, die keinen Knoten haben, der im Booleschen Modell aufgrund einer Selbstregulation eine Zustandsdauer von nur einem Zeitschritt hat. Diese Information basiert nicht auf Simulationen, sondern hängt allein von der Booleschen Trajektorie und der Netzwerkstruktur ab. Interessanterweise ist der Anteil der Netzwerke, in denen

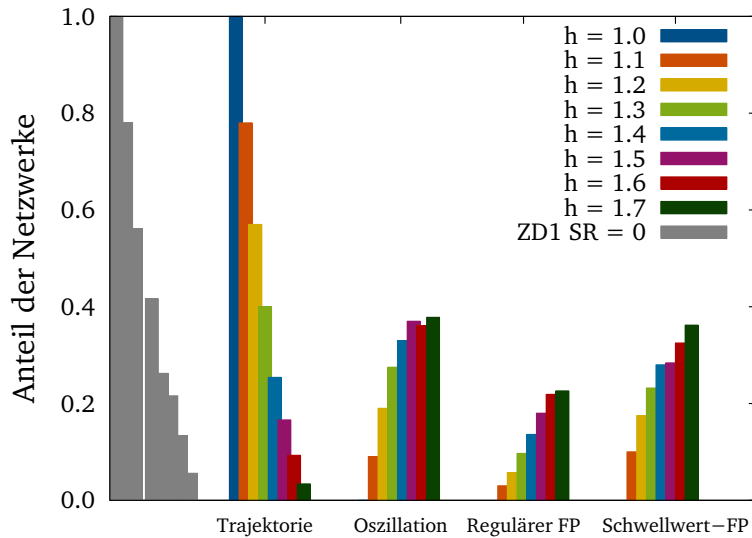


Abbildung 37: Anteile der Netzwerke, in den verschiedenen Klassen – Trajektorie, Oszillation, Regulärer Fixpunkt und Schwellwert-Fixpunkt – für Netzwerke mit  $N = 10, L = 20$  und Hill-Koeffizient  $n = 10$ . Die grauen Balken auf der linken Seite zeigen zudem, wie viele Netzwerke im Booleschen Modell mit paralleler Aktualisierung keinen Knoten haben, der durch eine Selbstregulation eine Zustandsdauer von nur einem Zeitschritt aufweist (ZD1 SR= 0).

kein Knoten eine Zustandsdauer (ZD) von nur einem Zeitschritt hat, gekoppelt mit dem Auftreten einer Selbstregulation (SR) (bezeichnet als ZD1 SR= 0), sehr ähnlich zum Anteil der Netzwerke, die eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen Trajektorie und den kontinuierlichen Oszillationen zeigen.

Für Trajektorien mit Hamming-Abstand  $h = 1$  haben alle Netzwerke ZD1 SR= 0, da das System zum selben Zustand zurückkehren würde, wenn ein Knoten seinen Zustand zweimal in direkt aufeinanderfolgenden Zeitschritten ändert. Damit basiert die gute Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik der vollständig zuverlässigen Trajektorien nicht allein darauf, dass pro Zeitschritt nur ein Knoten seinen Zustand ändert, sondern hängt auch davon ab, dass jeder Knoten für mindestens zwei Zeitschritte seinen aktuellen Zustand beibehalten muss, damit ein anderer Knoten in der Zwischenzeit seinen Wert ändern kann. Nur wenn mehr als ein Knoten pro Zeitschritt ihren Zustand ändern, d.h. wenn gilt  $h > 1$ , kann ein anderer Netzwerkzustand erreicht werden, wenn der Wert eines Knotens zweimal in direkt aufeinanderfolgenden Booleschen Zeitschritten wechselt.

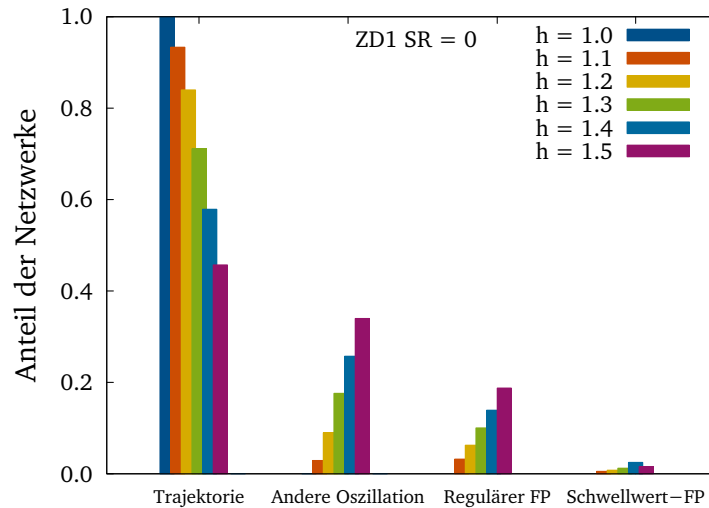


Abbildung 38: Anteile der Netzwerke mit ZD1 SR= 0, in den verschiedenen Klassen Trajektorie, Oszillation, Regulärer Fixpunkt und Schwellwert-Fixpunkt. Gezeigt ist eine Analyse von Netzwerken mit  $N = 10$ ,  $L = 20$  und  $n = 10$ .

Wenn nur solche Netzwerke betrachtet werden, die keinen Knoten haben, der wegen einer Selbstregulation eine Zustandsdauer von nur einem Zeitschritt hat (ZD1 SR= 0), steigt der Anteil der Netzwerke, der die Boolesche Trajektorie reproduziert, wie Abbildung 38 für Netzwerke mit  $N = 10$  und  $L = 20$  zeigt. Für einen mittleren Hamming-Abstand  $h = 1.1$  steigt der Anteil der übereinstimmenden Trajektorien beispielsweise von 78% auf 93% und für  $h = 1.4$  steigt der Anteil von 25% auf 51% (vgl. Abbildung 37 und Abbildung 38). Solche Netzwerke, die auch ZD1 SR= 0 aufweisen, aber nicht die Boolesche Trajektorie reproduzieren, zeigen andere Oszillationen oder laufen auf einen regulären Fixpunkt, doch die Anzahl der Netzwerke, deren Dynamik auf einem Schwellwert-Fixpunkt endet, ist merklich reduziert.

Es gibt jedoch auch Netzwerke, die die Boolesche Trajektorie im kontinuierlichen Modell reproduzieren können, obwohl sie einen Knoten haben, der seinen Zustand zweimal direkt hintereinander wegen einer Selbstregulation ändert (ZD1 SR> 0) (siehe Abbildung 39). Der Anteil für Netzwerke mit  $N = 10$  und  $L = 20$  beträgt 10% bis 40% für mittlere Hamming-Abstände von  $h = 1.1$  bis  $h = 1.5$ . Dies wurde auch für größere Systeme mit  $N = 20$  untersucht, und es konnten die gleichen Trends beobachtet werden.



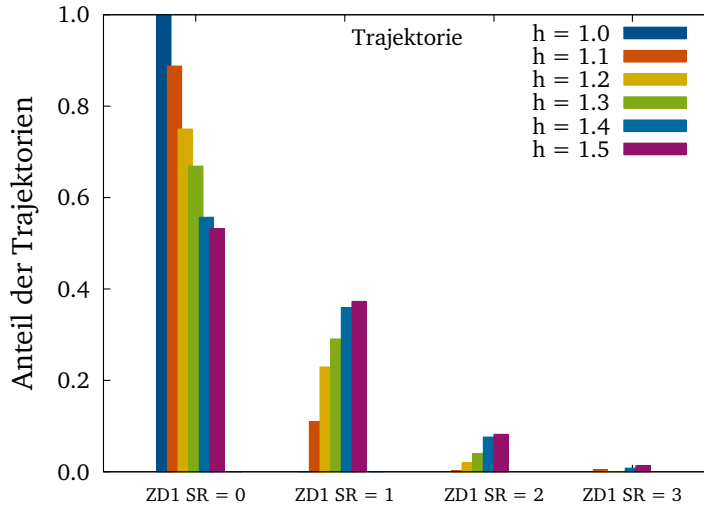


Abbildung 39: Anteile der Netzwerke mit reproduzierter Trajektorie, die verschiedene Werte von ZD1 SR= 0 zeigen für Netzwerke mit  $N = 10, L = 20$  und  $n = 10$ .

Es kann gefolgert werden, dass ein generelles Verbot für einen Knoten seinen Zustand zweimal innerhalb von zwei aufeinanderfolgenden Zeitschritten im Booleschen System mit paralleler Aktualisierung zu ändern, den Anteil der reproduzierten Trajektorien für mittlere Hamming-Abstände  $h > 1$  signifikant steigern sollte. Diese Vermutung wird für Netzwerke mit  $N = 10, L = 20, h = 1.1$  und  $h = 1.2$  überprüft (siehe Abbildung 40). Es zeigt sich, dass mit dieser Einschränkung für alle Netzwerke Oszillationen gefunden werden, die mit der Booleschen Trajektorie übereinstimmen, so lange der Hill-Koeffizient groß genug ist ( $n \approx 10$ ). Der Anteil der Netzwerke mit übereinstimmender Trajektorie ist damit sogar noch größer, als anhand von Abbildung 38 vermutet, da nun nicht nur kurze Zustandsdauern durch eine Selbstregulation ausgeschlossen sind, sondern es sind alle Fälle verboten, in denen ein Knoten im Booleschen System mit paralleler Aktualisierung seinen Zustand zweimal direkt hintereinander ändert. Zusätzlich wurde untersucht, ob durch eine noch striktere Einschränkung der Zustandsdauer auf mindestens drei Zeitschritte der Hill-Koeffizient verringert werden kann, der gebraucht wird um für alle Netzwerke eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zu zeigen. Es wurden dadurch jedoch keine signifikant besseren Ergebnisse erzielt.

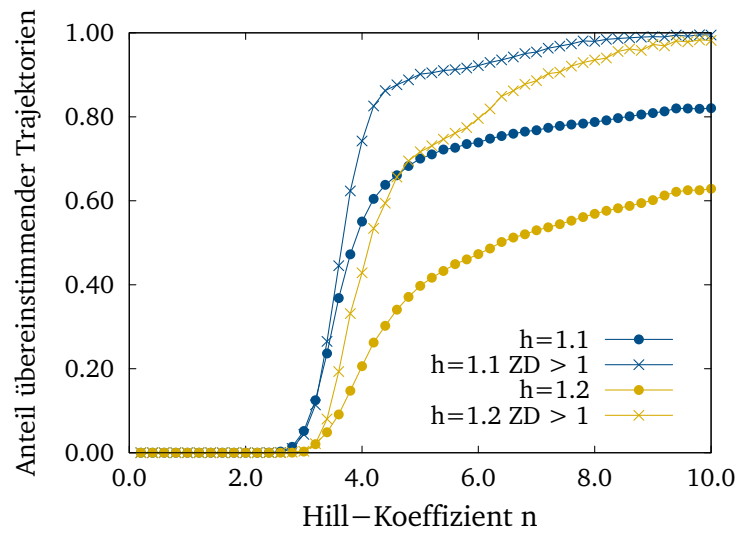


Abbildung 40: Für mittlere Hamming-Abstände  $h = 1.1$  und  $h = 1.2$  wird der Anteil der Netzwerke ( $N = 10$ ), die eine Übereinstimmung der Booleschen und kontinuierlichen Trajektorie ( $L = 20$ ) zeigen, deutlich erhöht, wenn ein Knoten im Booleschen System mit paralleler Aktualisierung seinen Zustand nicht zweimal direkt hintereinander ändern darf, d.h. wenn für die Zustandsdauer gilt, dass  $ZD > 1$ .

#### 4.4 DISKUSSION DER ERGEBNISSE FÜR NETZWERKE MIT GLEICHEN DYNAMISCHEN EIGENSCHAFTEN

In diesem Kapitel der Arbeit konnte gezeigt werden, dass für Netzwerke, die vollständig zuverlässige Trajektorien im Booleschen Modell haben, eine sehr gute Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik vorliegt. Vollständig zuverlässige Trajektorien sind periodische Zustandsabfolgen, die im Booleschen Modell nur Hamming-Abstand  $h = 1$  zwischen aufeinanderfolgenden Zuständen aufweisen. Die Beeinflussung der Übereinstimmung durch den Hamming-Abstand wurde zudem überprüft, indem die Ergebnisse mit denen für Trajektorien mit steigendem mittleren Hamming-Abstand verglichen wurden. Für diese partiell zuverlässigen Trajektorien ist der Anteil der durch das kontinuierliche Modell reproduzierten Trajektorien wesentlich kleiner.

Mit dem Modell der gewöhnlichen Differentialgleichungen, das sowohl die Zeit als auch die Konzentrationswerte kontinuierlich beschreibt, treten interessante Phänomene auf: Wie schon in anderen Arbeiten [86, 130, 131, 132] wurden Fixpunkte gefunden, die im kontinuierlichen System Konzentrationswerte in der Nähe der Schwellwerte der Regulationsfunktionen aufweisen. Das Auftreten dieser Schwellwert-Fixpunkte kann verhindert werden, wenn den betrachteten Trajektorien spezielle Einschränkungen auferlegt werden: Die Trajektorie darf keinen Knoten enthalten, der in der Booleschen Realisierung in zwei aufeinanderfolgenden Zeitschritten zweimal seinen Zustand ändert. Mit dieser Beschränkung passen das Boolesche und das kontinuierliche Modell überraschend gut zusammen. Im speziellen Fall der vollständig zuverlässigen Trajektorien mit  $h = 1$  basiert die sehr gute Übereinstimmung also nicht nur auf der Tatsache, dass pro Zeitschritt nur ein Knoten seinen Zustand ändert, sondern auch darauf, dass solche sequentiellen Zustandsänderungen der Knoten unmöglich sind und die Knoten dadurch länger im selben Zustand verbleiben.

Trajektorien mit Hamming-Abstand  $h = 1$  wurden zuvor bereits von Wilds und Glass [126] untersucht, die ebenfalls die sehr gute Reproduzierbarkeit mit kontinuierlicher Dynamik betonen. Sie

haben jedoch, im Gegensatz zu dieser Arbeit, nur wenige Netzwerke mit höchstens fünf Knoten untersucht und mehr Einschränkungen implementiert, z. B. schließen sie eine Selbstregulation der Knoten aus. Aus den Ergebnissen dieses Kapitels kann gefolgert werden, dass eine Selbstregulation nicht in allen Fällen nachteilig ist. Dies stimmt damit überein, dass sie auch in echten System beobachtet werden. Wilds und Glass [126] nennen als weitere Bedingung, dass Nachbarzustände direkt als transiente Zustände auf die Trajektorie führen müssen. Diese Einschränkung ist für die hier betrachteten Trajektorien nicht integriert, so dass weit mehr mögliche Trajektorien berücksichtigt werden, und sie scheint nicht relevant für eine gute Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik zu sein, wenn der Startwert des kontinuierlichen Systems Teil der Trajektorie ist.

Inspiziert von der Arbeit von Wilds und Glass [126] wurde jedoch eine weitere Studie durchgeführt, um die Auswirkungen der Transienten zu analysieren. Für Netzwerke mit fünf Knoten und vollständig zuverlässigen Trajektorien mit 20 Zuständen wurden zwei Extremfälle verglichen: Auf der einen Seite minimale Netzwerke, mit der kleinstmöglichen Anzahl an Eingängen pro Knoten und den einfachsten Funktionen, und auf der anderen Seite vollständig verknüpfte Netzwerke, in denen der Zustandsraum komplett bestimmt ist und jeder Zustand auf die Trajektorie führt, so dass nur ein Attraktor existiert, die vollständig zuverlässige Trajektorie. Diese genaue Beschreibung des Zustandsraums konnte jedoch nicht die Hill-Koeffizienten verringern, die für 100% Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik dieses Netzwerk-Ensembles erforderlich sind. Der Grund dafür ist, dass für Hamming-Abstände  $h = 1$  im kontinuierlichen Modell keine Zwischenzustände erforderlich sind um die Trajektorie zu reproduzieren. So können auch keine Zwischenzustände mit regulären Fixpunkten des Booleschen Netzwerks zusammenfallen und damit die Übereinstimmung zerstören. Daher wird für vollständig zuverlässige Trajektorien keine Verbesserung der Reproduzierbarkeit durch die kontinuierliche Dynamik beobachtet, wenn der Zustandsraum vollständig definiert ist. Es ist jedoch sicherlich lohnenswert, den Unterschied zwischen den minimalen und vollständig verknüpften Netzwerken für Trajektorien mit größeren Hamming-Abständen zu untersuchen, da in diesem Fall der Zustandsraum so definiert

werden könnte, dass Zustände, die als Zwischenzustände gewählt werden, als transiente Zustände auf die Trajektorie führen und nicht selbst Attraktoren des Systems sind. Diese präzise Definition des Zustandsraum würde verhindern, dass die kontinuierliche Trajektorie auf einem regulären Fixpunkt endet und damit den Anteil der Trajektorien erhöhen, für den eine Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik gefunden wird.

Es ist interessant die Ergebnisse der Untersuchung der sehr abstrakten Netzwerke mit denen von Braunewell und Bornholdt [12] zu vergleichen, die das Netzwerk des Zellzyklus in Hefe untersucht haben, welches ähnliche Eigenschaften zu den hier betrachteten Netzwerken aufweist: Das Netzwerk des Zellzyklus besteht aus 11 Knoten und die Trajektorie hat 13 Zustände. Im Gegensatz zu dem Vorgehen in dieser Arbeit untersuchen Braunewell und Bornholdt nicht die Übereinstimmung von Boolescher und kontinuierlicher Dynamik, sondern die Robustheit der Trajektorie gegenüber zeitlichen Fluktuationen der ablaufenden Prozesse, wie dem Konzentrationsauf- und -abbau der Proteine. Braunewell und Bornholdt testen, ob das System die biologisch relevante Abfolge von Zuständen trotz eines zeitlichen Rauschens reproduzieren kann und können zeigen, dass die sehr robuste Dynamik auf drei Kriterien beruht: Das Auftreten von Netzwerkzuständen, die einen Hamming-Abstand  $h = 1$  zum nächsten Zustand der Trajektorie haben, ein großes Einzugsgebiet des Attraktors und eine ausreichend lange Dauer der Zustände der einzelnen Knoten, bevor sie erneut ihren Wert ändern.

Das Kriterium, dass ein Knoten ausreichend lang einen Zustand beibehalten muss, stimmt mit dem in dieser Arbeit gefundenen Ergebnis überein, dass der Anteil der Netzwerke, der die Boolesche Trajektorie reproduzieren kann, wesentlich größer ist, wenn keine Knoten vorkommen, die ihren Zustand durch eine Selbstregulation in zwei aufeinanderfolgenden Zeitschritten ändern. Außerdem zeigt sich auch in dieser Arbeit, dass Zustände mit  $h = 1$  wichtig sind, denn vor allem Netzwerke mit einem niedrigen mittleren Hamming-Abstand  $h$  zeigen eine gute Übereinstimmung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik.

Der im zweiten Teil dieser Arbeit gewählte Ansatz ist ähnlich zu der Evaluation echter Experimente, bei denen die dynamischen Trajektorien in Form von Microarray Daten gewonnen werden, auf deren

Basis dann mit zusätzlichem biologischen Wissen das Netzwerk konstruiert wird. Basierend auf der Trajektorie, der Topologie und mit den in dieser Arbeit gefundenen Kriterien, kann bereits vor der Simulation entschieden werden, ob es lohnenswert ist, gewöhnliche Differentialgleichungen aufzustellen, oder ob die Boolesche Repräsentation für ein qualitatives Modell ausreicht.

## FAZIT UND AUSBLICK

---

Um die komplexen Mechanismen von Genregulationsnetzwerken und die nichtlinearen Interaktionen zwischen Genen zu beschreiben, können verschiedene mathematische Modelle aufgestellt werden, die in ihrem Abstraktionsniveau voneinander abweichen. Die verschiedenen Modelle unterscheiden sich beispielsweise in den Möglichkeiten der mathematischen Analyse, aber auch die von den Modellen vorhergesagte Dynamik eines Systems hängt von den getroffenen Annahmen und Vereinfachungen ab. Diese Arbeit beschäftigt sich mit dem Vergleich zweier gängiger Modellierungsansätze für Genregulationsnetzwerke: Dem Vergleich von Boolescher und kontinuierlicher Dynamik.

Realistische Modelle für Genregulationsnetzwerke bestehen aus Ratengleichungen für die Konzentrationen der beteiligten Makromoleküle, d.h. der mRNAs und Proteine. Die Veränderung der Konzentration geschieht dabei kontinuierlich in der Zeit und auch die Konzentrationen selbst haben kontinuierliche Werte. Neben diesem detaillierten, quantitativen Zugang werden generelle Eigenschaften der Genregulation auch durch die anschauliche Beschreibung als Boolesches Netzwerk wiedergegeben. In Booleschen Modellen wird die Zeit diskret modelliert und der Zustand eines Gens ist entweder „an“ oder „aus“. Durch die Einfachheit und Transparenz der Booleschen Beschreibung ist dieses Modell auch rechentechnisch sehr günstig, doch es stellt sich die Frage, unter welchen Bedingungen die Boolesche Modellierung die dynamischen Eigenschaften des entsprechenden kontinuierlichen Systems richtig wiedergibt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Boolesche und kontinuierliche Dynamik auf Netzwerken im Kontext der Genregulation systematisch verglichen. Durch die Untersuchung konnten Bedingungen aufgestellt werden, in welchen Fällen eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Modellen gefunden werden kann.

Um die Kriterien zur Übereinstimmung der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik zu definieren, wurden im ersten Teil der Arbeit

spezielle Module von Genregulationsnetzwerken untersucht. Diese sind Feedback-Schleifen, in denen Gene ringförmig vernetzt sind und durch eine zusätzliche Kante eine gekoppelte Feedback-Schleife bilden können. Begonnen wurde dabei mit dem kleinstmöglichen der Netzwerke aus nur zwei Genen, bevor die Untersuchung auf drei und schließlich  $N$  Gene verallgemeinert wurde. Für diese Netzwerke mit gleicher Topologie, aber unterschiedlichen Regulationsfunktionen, wurde die Boolesche Dynamik mit der des kontinuierlichen Modells verglichen, das mit Hilfe einer generalisierten Methode beschrieben wurde. Generalisierte Modelle erlauben es, die Stabilität von Fixpunkten und das Auftreten von Oszillationen in Abhängigkeit von allgemeinen Merkmalen des Systems zu untersuchen, ohne einzelne Parameter oder die regulatorischen Funktionen genau bestimmen zu müssen. Für das kontinuierliche Modell konnten damit generelle Bedingungen für Sattelnoden-Bifurkationen und Hopf-Bifurkation aufgestellt und das Auftreten von mehreren Fixpunkten oder Oszillationen untersucht werden. Die relevanten Parameter des Modells sind dabei die Vorzeichen der regulatorischen Interaktionen, die Steigung der Regulationsfunktion und das Zeitskalenverhältnis zwischen mRNA- und Protein-Dynamik.

Durch den Vergleich des kontinuierlichen Modells mit verschiedenen regulatorischen Interaktionen mit dem jeweiligen Booleschen Modell, wurde festgestellt, dass das Auftreten eines Zyklus im Booleschen Modell weder notwendig noch ausreichend für das Auftreten von Oszillationen im kontinuierlichen Modell ist. Zudem gibt es keine einfache Beziehung zwischen Boolescher und kontinuierlicher Dynamik, auch nicht für sehr kleine Netzwerke aus nur zwei oder drei Genen. Aus dem systematischen Vergleich der beiden Modelle kann gefolgert werden, dass nicht die Größe oder Topologie eines Netzwerks bestimmen, inwieweit Boolesche und kontinuierliche Dynamik übereinstimmen, sondern spezielle dynamische Eigenschaften des Netzwerks. Ein Kriterium, das definiert werden konnte, ist der Einfluss des Hamming-Abstands zwischen zwei aufeinanderfolgenden Zuständen einer Trajektorie: Für die betrachteten Netzwerke werden Zyklen, die im Booleschen Modell nur Hamming-Abstand  $h = 1$  aufweisen, auch im kontinuierlichen Modell in Form von Oszillationen der Konzentrationen gefunden. Wenn die Trajektorien Zustandsübergänge mit Hamming-Abständen  $h > 1$  haben, werden im kontinuierlichen System Zwischenzustände eingenommen, die



nicht mit einem Fixpunkt des Booleschen Systems übereinstimmen dürfen, damit im kontinuierlichen System Oszillationen auftreten.

Auf den Ergebnissen dieser Untersuchungen der Feedback-Schleifen aufbauend, wurden im zweiten Teil der Arbeit Netzwerke betrachtet, die keine spezielle Topologie aufweisen, sondern gemeinsame Eigenschaften der dynamischen Trajektorien zeigen: Im Booleschen Modell haben diese Netzwerke *vollständig zuverlässige Trajektorien*, die robust gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge der Knoten sind, da sie nur Hamming-Abstand  $h = 1$  zwischen aufeinanderfolgenden Zuständen aufweisen. Es konnte gezeigt werden, dass für Netzwerke, die vollständig zuverlässige Trajektorien im Booleschen Modell haben, eine sehr gute Übereinstimmung zwischen der Booleschen und kontinuierlichen Dynamik vorliegt. Es wurden dabei nicht spezifische, individuelle Netzwerke analysiert, sondern tausende Netzwerke verschiedener Größe mit Trajektorien verschiedener Länge. Der Einfluss des Hamming-Abstands auf die Übereinstimmung der beiden Modelle wurde näher betrachtet, indem die Ergebnisse mit denen für Trajektorien mit steigendem mittleren Hamming-Abstand verglichen wurden. Für diese *partiell zuverlässigen Trajektorien* ist der Anteil der durch das kontinuierliche Modell reproduzierten Trajektorien wesentlich kleiner und es wurden Fixpunkte gefunden, die im kontinuierlichen System Konzentrationswerte in der Nähe der Schwellwerte der Regulationsfunktionen aufweisen. Das Auftreten dieser Schwellwert-Fixpunkte kann verhindert werden, wenn den betrachteten Trajektorien spezielle Einschränkungen auferlegt werden: Die Trajektorie darf keinen Knoten enthalten, der in der Booleschen Realisierung in zwei aufeinanderfolgenden Zeitschritten zweimal seinen Zustand ändert. Mit dieser Beschränkung passen das Boolesche und das kontinuierliche Modell überraschend gut zusammen. Im speziellen Fall der vollständig zuverlässigen Trajektorien mit  $h = 1$  basiert die sehr gute Übereinstimmung also nicht allein auf der Tatsache, dass pro Zeitschritt nur ein Knoten seinen Zustand ändert, sondern auch darauf, dass sequentielle Zustandsänderungen unmöglich sind, da das System sonst zum selben Netzwerkzustand zurückkehren würde. Aus diesem Grund verbleiben die Knoten in vollständig zuverlässigen Trajektorien länger im selben Zustand.

Wenn Netzwerke mit Hamming-Abstand  $h > 1$  betrachtet werden, ist für das kontinuierliche System nicht festgelegt, welche Zwischenzustände eingenommen werden. Für einen Hamming-Abstand  $h = 2$  gibt es damit beispielsweise zwei mögliche Wege, die das System gehen kann und die auch im Booleschen System mit stochastischem Update gewählt werden könnten. Dies kann als Übergang zu sogenannten *Checkpoint-Netzwerken* gesehen werden. Checkpoints sind Zustände, die ein System, wie beispielsweise der Zellzyklus, erreichen muss, bevor die Dynamik weiter ablaufen kann. Die Zustände, die zwischen den Checkpoints eingenommen werden, sind dabei jedoch nicht vollständig definiert. Damit ist die Dynamik dieser Netzwerke gezwungen, die Checkpoints zu passieren, es ist jedoch freigestellt, welcher der verschiedenen Wege genommen wird. Es wäre interessant in weiterer Forschung die Dynamik solcher Checkpoint-Netzwerke genauer zu untersuchen, vor allem in Hinblick darauf, wie der Zustandsraum, und damit das Netzwerk selbst, aufgebaut sein muss, damit die Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells übereinstimmen.

Nach den in dieser Arbeit vorgestellten Erkenntnissen zeigt die Dynamik des Booleschen und kontinuierlichen Modells gerade dann eine gute Übereinstimmung, wenn die Netzwerke robust gegenüber Fluktuationen in der Aktualisierungsreihenfolge sind. Das bedeutet, dass für solche Systeme wie den Zellzyklus, die auch bei Rauschen zuverlässig ablaufen müssen, die abstrakte Boolesche Beschreibung eine angemessene Repräsentation des echten biologischen Systems ist.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- [1] The CSS Roadmap for the Science of Complex Systems, 2009.
- [2] Joshua W. K. Ho und Michael A. Charleston. Network modeling of gene regulation. *Biophysical Reviews*, 3(1):1–13, 2011.
- [3] Jordi Garcia-Ojalvo. Physical approaches to the dynamics of genetic circuits: A tutorial. *Contemporary Physics*, 52(5):439–464, 2011.
- [4] Réka Albert. Scale-free networks in cell biology. *Journal of Cell Science*, 118:4947–4957, 2005.
- [5] Fangting Li, Tao Long, Ying Lu, Qi Ouyang und Chao Tang. The yeast cell-cycle network is robustly designed. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101:4781, 2004.
- [6] Hiroki R. Ueda, Masatoshi Hagiwara und Hiroaki Kitano. Robust oscillations within the interlocked feedback model of drosophila circadian rhythm. *Journal of Theoretical Biology*, 210(4):401–406, 2001.
- [7] John J. Tyson. Models of cell cycle control in eukaryotes. *Journal of Biotechnology*, 71(1-3):239–244, 1999.
- [8] Domitilla Del Vecchio und Eduardo D. Sontag. Dynamics and control of synthetic bio-molecular networks. *Proceedings of American Control Conference*, 2007.
- [9] Michael B. Elowitz und Stanislas Leibler. A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature*, 403(6767):335–338, 2000.
- [10] Stuart A. Kauffman. Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic nets. *Journal of Theoretical Biology*, 22(3):437–467, 1969.
- [11] René Thomas. Boolean formalization of genetic control circuits. *Journal of Theoretical Biology*, 42(3):563–585, 1973.

- [12] Stefan Braunewell und Stefan Bornholdt. Superstability of the yeast cell-cycle dynamics: ensuring causality in the presence of biochemical stochasticity. *Journal of Theoretical Biology*, 245:638–643, 2007.
- [13] Paul Smolen, Douglas A. Baxter und John H. Byrne. Modeling transcriptional control in gene networks - methods, recent results, and future directions. *Bull Math Biol.*, 61:247–292, 2000.
- [14] Hidde de Jong. Modeling and simulation of genetic regulatory systems: A literature review. *Journal of Computational Biology*, 9:67–103, 2002.
- [15] Guy Karlebach und Ron Shamir. Modelling and analysis of gene regulatory networks. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(10):770–780, 2008.
- [16] Johannes Norrell, Bjorn Samuelsson und Joshua E. Socolar. Attractors in continuous and boolean networks. *Physical Review E*, 76(4):046122, 2007.
- [17] Johannes Norrell und Joshua E. Socolar. Boolean modeling of collective effects in complex networks. *Physical Review E*, 79, 2009.
- [18] Atsushi Mochizuki. An analytical study of the number of steady states in gene regulatory networks. *Journal of Theoretical Biology*, 236(3):291–310, 2005.
- [19] Thilo Gross und Ulrike Feudel. Generalized models as a universal approach to the analysis of nonlinear dynamical systems. *Physical Review E*, 73(1):016205, 2006.
- [20] Tiago P. Peixoto und Barbara Drossel. Boolean networks with reliable dynamics. *Physical Review E*, 80(5):056102, 2009.
- [21] Edward O. Wilson. *Consilience: The Unity of Knowledge*. Knopf, 1 edition, 1998.
- [22] Steven H. Strogatz. Exploring complex networks. *Nature*, 410:268–276, 2001.
- [23] Réka Albert und Albert-László Barabási. Statistical mechanics of complex networks. *Reviews of Modern Physics*, 74:47–97, 2002.
- [24] Christina Büsing. *Graphen- und Netzwerkoptimierung*. Spektrum Akademischer Verlag, 2010.

- [25] <http://zfin.org/>. Zebrafish model organism database.
- [26] <http://www.ebi.ac.uk/pdbe/>. Protein data bank europe.
- [27] <http://www.imdb.com/>. Internet movie database.
- [28] Réka Albert, Hawoong Jeong und Albert-László Barabási. Diameter of the world wide web. *Nature*, 401:130–131, 1999.
- [29] Anne-Ly Do, Lars Rudolf und Thilo Gross. Patterns of co-operation: fairness and coordination in networks of interacting agents. *New Journal of Physics*, 12:063023, 2010.
- [30] Oliver Richters und Tiago P. Peixoto. Trust transitivity in social networks. *PLoS ONE*, 6(4):e18384, 2011.
- [31] Christel Kamp. Untangling the interplay between epidemic spread and transmission network dynamics. *PLoS Comput Biol*, 6(11):e1000984, 2010.
- [32] Gergely Palla, Albert-László Barabási und Tamás Vicsek. Quantifying social group evolution. *Nature*, 446:664–667, 2007.
- [33] Juan Camacho, Roger Guimerà und Luís A. Nunes Amaral. Analytical solution of a model for complex food webs. *Physical Review E*, 62:030901, 2002.
- [34] Barbara Drossel und Alan J. McKane. *Handbook of graphs and networks.*, chapter Modelling food webs, pages 219–247. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
- [35] Lotta Heckmann, Barbara Drossel, Ulrich Brose und Christian Guill. Interactive effects of body-size structure and adaptive foraging on food-web stability. *Ecology Letters*, 15(3):243–250, 2012.
- [36] Satoshi Uchida und Barbara Drossel. Relation between complexity and stability in food webs with adaptive behavior. *Journal of Theoretical Biology*, 247:713–722, 2007.
- [37] Sebastian J. Plitzko, Barbara Drossel und Christian Guill. Complexitystability relations in generalized food-web models with realistic parameters. *Journal of Theoretical Biology*, 306(7):7–14, 2012.

- [38] Leighton Pritchard und Douglas B. Kell. Schemes of flux control in a model of *Saccharomyces cerevisiae* glycolysis. *European Journal of Biochemistry*, 269(16):3894–3904, 2002.
- [39] Manfred Rizzi, Uwe Theobald, Erich Querfurth, Thilo Rohrhirsch, Michael Baltes und Matthias Reuss. In vivo investigations of glucose transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology and Bioengineering*, 49:316–327, 1996.
- [40] Finn Hynne, Sune Danø und Preben G. Sørensen. Full-scale model of glycolysis in *saccharomyces cerevisiae*. *Biophysical Chemistry*, 94(1-2):121–163, 2001.
- [41] Mads F. Madsen, Sune Danø und Preben G. Sørensen. On the mechanisms of glycolytic oscillations in yeast. *FEBS Journal*, 272:2648–2660, 2005.
- [42] Eva Gehrmann, Christine Gläßer, Yaochu Jin, Bernhard Sendhoff, Barbara Drossel und Kay Hamacher. Robustness of glycolysis in yeast to internal and external noise. *Physical Review E*, 84:021913, 2011.
- [43] Uri Alon. *An Introduction to Systems Biology*. Chapman & Hall/-CRC, 2007.
- [44] Daniel Machado, Rafael S. Costa, Miguel Rocha, Isabel Rocha, Bruce Tidor und Eugénio C. Ferreira. *Distributed Computing, Artificial Intelligence, Bioinformatics, Soft Computing, and Ambient Assisted Living*, chapter A Critical Review on Modelling Formalisms and Simulation Tools in Computational Biosystems, pages 1063–1070. Springer Berlin / Heidelberg, 2009.
- [45] Sune Danø, Mads F. Madsen, H. Schmidt und G. Cedersund. Reduction of a biochemical model with preservation of its basic dynamic properties. *FEBS Journal*, 273:4862–4877, 2006.
- [46] Panayotis D. Kourdis, Ralf Steuer und Dimitris A. Goussis. Physical understanding of complex multiscale biochemical models via algorithmic simplification: Glycolysis in *saccharomyces cerevisiae*. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 2010(18):1798–1817, 239.
- [47] David Terman, Sungwoo Ahn, Sungwoo Wang und Winfried Just. Reducing neuronal networks to discrete dynamics. *Physica D*, 237:324–338, 2008.

- [48] Maria Davidich und Stefan Bornholdt. The transition from differential equations to boolean networks: A case study in simplifying a regulatory network model. *Journal of Theoretical Biology*, 255(3):269–277, 2008.
- [49] Henning Schmidt, Mads F. Madsen, Sune Danø und Gunnar Cedersund. Complexity reduction of biochemical rate expressions. *Bioinformatics*, 24:848–854, 2008.
- [50] Gerald Karp. *Molekulare Zellbiologie*. Springer Berlin / Heidelberg, 2005.
- [51] Kim Sneppen und Giovanni Zocchi. *Physics in Molecular Biology*. Cambridge University Press, 2005.
- [52] Anthony J.F. Griffiths, Jeffrey H. Miller, David T. Suzuki, Richard C. Lewontin und William M. Gelbart. *Genetic Analysis*. W.H. Freeman and Company, 1993.
- [53] François Jacob und Jacques Monod. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology*, 3:318–356, 1961.
- [54] Jacques Monod, Jean-Pierre Changeaux und François Jacob. Allosteric proteins and cellular control systems. *Journal of Molecular Biology*, 6:306–329, 1963.
- [55] Theodore J. Perkins, Mike Hallett und Leon Glass. Dynamical properties of model gene networks and implications for the inverse problem. *Biosystems*, 84:115–123, 2006.
- [56] Stefan Bornholdt. Less is more in modeling large genetic networks. *Science*, 310:449, 2005.
- [57] Paul Erdős und Alfred Rényi. On the evolution of random graphs. *Publications of the Mathematical Institute of the Hungarian Academy of Sciences*, 5:17–61, 1960.
- [58] Tamara Mihaljev und Barbara Drossel. Evolution of a population of random boolean networks. *The European Physical Journal B*, 67(2):259, 2009.
- [59] Agnes Szejká und Barbara Drossel. Evolution of boolean networks under selection for a robust response to external inputs yields an extensive neutral space. *Physical Review E*, 81(2), 2010.

- [60] Barbara Drossel und Florian Greil. Critical boolean networks with scale-free in-degree distribution. *Physical Review E*, 80(2):026102, 2009.
- [61] Tiago P. Peixoto. Redundancy and error resilience in boolean networks. *Physical Review Letters*, 104(4):048701, 2010.
- [62] Shoudan Liang, Stefanie Fuhrman und Roland Somogyi. Reveal, a general reverse engineering algorithm for inference of genetic network architectures. *Pacific Symposium on Biocomputing*, 3:18–29, 1998.
- [63] Shawn Martin, Zhaoduo Zhang, Anthony Martino und Jean-Loup Faulon. Boolean dynamics of genetic regulatory networks inferred from microarray time series data. *Bioinformatics*, 23(7):866–874, 2007.
- [64] Stefan Bornholdt. Boolean network models of cellular regulation: prospects and limitations. *J. Roy. Soc. Interface*, 5:85–94, 2008.
- [65] Adrien Fauré, Aurélien Naldi, Claudine Chaouiya und Denis Thieffry. Dynamical analysis of a generic boolean model for the control of the mammalian cell cycle. *Bioinformatics*, 22(14):e124–e131, 2006.
- [66] Réka Albert und Hans G. Othmer. The topology of the regulatory interactions predicts the expression pattern of the segment polarity genes in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Theoretical Biology*, 223:1–18, 2003.
- [67] Areejit Samal und Sanjay Jain. The regulatory network of *e. coli* metabolism as a boolean dynamical system exhibits both homeostasis and flexibility of response. *BMC Systems Biology*, 2(1):21, 2008.
- [68] Franziska Hinkelmann und Reinhard Laubenbacher. Boolean models of bistable biological systems. *Journal of Discrete and Continuous Dynamical Systems - Series S (DCDS-S)*, 4(6):1443–1456, 2011.
- [69] Claudine Chaouiya. Petri net modelling of biological networks. *Briefings in Bioinformatics*, 8(4):210–219, 2007.



- [70] Lucas Sanchez und Denis Thieffry. A logical analysis of the drosophila gap-gene system. *Journal of Theoretical Biology*, 211(2):115–141, 2001.
- [71] Florian Greil, Barbara Drossel und Joost Sattler. Critical kauffman networks under deterministic asynchronous update. *New Journal of Physics*, 9:373, 2007.
- [72] Mihaela T. Matache und Jack Heidel. Asynchronous random boolean network model based on elementary cellular automata rule 126. *Physical Review E*, 71:026232, 2005.
- [73] Ilya Shmulevich, Edward R. Dougherty, Seungchan Kim und Wei Zhang. Probabilistic boolean networks: a rule-based uncertainty model for gene regulatory networks. *Bioinformatics*, 18(2):261–274, 2002.
- [74] Jason Steggles, Richard Banks, Oliver Shaw und Anil Wipat. Qualitatively modelling and analysing genetic regulatory networks: a petri net approach. *Bioinformatics*, 23(3):336–343, 2007.
- [75] Hiroshi Matsuno, Yukiko Tanaka, Hitoshi Aoshima, Atsushi Doi, Mika Matsui und Satoru Miyano. Biopathways representation and simulation on hybrid functional petri net. *In Silico Biol.*, 3(3):389–404, 2003.
- [76] Leon Glass. Classification of biological networks by their qualitative dynamics. *Journal of Theoretical Biology*, 54(1):85–107, 1975.
- [77] Leon Glass und Joel S. Pasternack. Stable oscillations in mathematical models of biological control systems. *Journal of Mathematical Biology*, 6(3):207–223, 1978.
- [78] Ting Chen, Hongyu L. He und George M. Church. Modeling gene expression with differential equations. *Pacific Symposium on Biocomputing.*, 4:29–40, 1999.
- [79] Daniel T. Gillespie. A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. *Journal of Computational Physics*, 22:403–434, 1976.
- [80] Daniel T. Gillespie. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *The Journal of Physical Chemistry*, 81(25):2340–2361, 1977.

- [81] Alan J. McKane, James D. Nagy, Timothy J. Newman und Marianne O. Stefanini. Amplified biochemical oscillations in cellular systems. *Journal of Statistical Physics*, 128:165–191, 2007.
- [82] Ralf Blossey und Claudiu V. Giuraniuc. Mean-field versus stochastic models for transcriptional regulation. *Physical Review E*, 78(3):031909, 2008.
- [83] Athanasios Polynikis, John Hogan und Mario di Bernardo. Comparing different ode modelling approaches for gene regulatory networks. *Journal of Theoretical Biology*, 261(4):511–530, 2009.
- [84] Stefanie Widder, Josef Schicho und Peter Schuster. Dynamic patterns of gene regulation i: Simple two-gene systems. *Journal of Theoretical Biology*, 246(3):395–419, 2007.
- [85] Archibald Vivian Hill. The possible effects of the aggregation of the molecules of hämoglobin on its dissociation curves. *The Journal of Physiology*, 40:iv–vii, 1910.
- [86] Siren R. Veflingstad und Erik Plahte. Analysis of gene regulatory network models with graded and binary transcriptional responses. *Biosystems*, 90(2):323–339, 2007.
- [87] Gad Yagil und Ezra Yagil. On the relation between effector concentration and the rate of induced enzyme synthesis. *Biophysical Journal*, 11(1):11–27, 1971.
- [88] Yaki Setty, Avraham E. Mayo, Michael G. Surette und Uri Alon. Detailed map of a cis-regulatory input function. *PNAS*, 100(13):7702–7707, 2003.
- [89] Dominik Wittmann, Jan Krumsiek, Julio Saez-Rodriguez, Douglas A. Lauffenburger, Steffen Steffen Klamt und Fabian Theis. Transforming boolean models to continuous models: methodology and application to t-cell receptor signaling. *BMC Systems Biology*, 3(1):98, 2009.
- [90] Steven H. Strogatz. *Nonlinear Dynamics And Chaos: With Applications To Physics, Biology, Chemistry, And Engineering*. Westview Press, 2000.
- [91] Ralf Steuer. Computational approaches to the topology, stability and dynamics of metabolic networks. *Phytochemistry*, 68(16-18):2139–2151, 2007.

- [92] Ralf Steuer, Thilo Gross, Joachim Selbig und Bernd Blasius. Structural kinetic modeling of metabolic networks. *PNAS*, 103(32):11868–11873, 2006.
- [93] Thilo Gross. *Population dynamics: General results from local analysis*. Der Andere Verlag, 2004.
- [94] Thilo Gross und Ulrike Feudel. Local dynamical equivalence of certain food webs. *Ocean Dynamics*, 59(2):417–427, 2009.
- [95] Ralf Steuer, Adriano Nunes Nesi, Alisdair R. Fernie, Thilo Gross, Bernd Blasius und Joachim Selbig. From structure to dynamics of metabolic pathways: Application to the plant mitochondrial tca cycle. *Bioinformatics*, 23:1378–1385, 2007.
- [96] Barbara Drossel. Random boolean networks. *Reviews of nonlinear dynamics and complexity*, 2007.
- [97] Richard W. Hamming. Error-detecting and error-correcting codes. *Bell System Technical Journal*, XXIX(2):147–160, 1950.
- [98] Eva Gehrmann und Barbara Drossel. Boolean versus continuous dynamics on simple two-gene modules. *Physical Review E*, 82:046120, 2010.
- [99] Eva Ackermann, Eva Marie Weiel, Torsten Pfaff und Barbara Drossel. Boolean versus continuous dynamics in modules with two feedback loops. *European Physical Journal E*, 35(10), 2012.
- [100] James E. Ferrell, Tony Yu-Chen Tsai und Qiong Yang. Modeling the cell cycle: Why do certain circuits oscillate? *Cell*, 144:874–885, 2011.
- [101] Leon Glass und Stuart A. Kauffman. Co-operative components, spatial localization and oscillatory cellular dynamics. *Journal of Theoretical Biology*, 34:219, 1972.
- [102] Leon Glass und Stuart A. Kauffman. The logical analysis of continuous, non-linear biochemical control networks. *Journal of Theoretical Biology*, 39(1):103–129, 1973.
- [103] Min Xiao und Jinde Caoa. Genetic oscillation deduced from hopf bifurcation in a genetic regulatory network with delays. *Mathematical Biosciences*, 215(1):55–63, 2008.

- [104] Jeff Hasty, David McMillen, Farren Isaacs und James J. Collins. Computational studies of gene regulatory networks: in numero molecular biology. *Nature Reviews Genetics*, 2:268–279, 2001.
- [105] David Angeli, James E. Ferrell und Eduardo D. Sontag. Detection of multistability, bifurcations, and hysteresis in a large class of biological positive-feedback systems. *PNAS*, 101(7):1822–1827, 2004.
- [106] Christophe Soulé. Mathematical approaches to differentiation and gene regulation. *Comptes Rendus Biologies*, 329(1):13–20, 2006.
- [107] Viktor Kaufman und Barbara Drossel. On the properties of cycles of simple boolean networks. *The European Physical Journal B*, 43:115–124, 2005.
- [108] Hans G. Othmer. The qualitative dynamics of a class of biochemical control circuits. *Journal of Mathematical Biology*, 3:53–78, 1976.
- [109] Simone Pigolotti, Sandeep Krishna und Mogens H. Jensen. Oscillation patterns in negative feedback loops. *PNAS*, 104(16):6533–6537, 2007.
- [110] Florian Greil und Barbara Drossel. Dynamics of critical kauffman networks under asynchronous stochastic update. *Physical Review Letters*, 95:048701, 2005.
- [111] Weihai Li, Sandeep Krishna, Simone Pigolotti, Namiko Mitarai und Mogens H. Jensen. Switching between oscillations and homeostasis in competing negative and positive feedback motifs. *Journal of Theoretical Biology*, 307:205–210, 2012.
- [112] Jeong-Rae Kim, Yeoin Yoon und Kwang-Hyun Cho. Coupled feedback loops form dynamic motifs of cellular networks. *Biophysical Journal*, 94(2):359–365, 2008.
- [113] Onn Brandman und Tobias Meyer. Feedback loops shape cellular signals in space and time. *Science*, 322(5900):390–395, 2008.
- [114] Domitilla Del Vecchio. Design and analysis of an activator-repressor clock in e. coli. *Proceedings of American Control Conference*, 2007.

- [115] Raúl Guantes und Juan F. Poyatos. Dynamical principles of two-component genetic oscillators. *PLoS Comput Biol*, 2(3):e30, 2006.
- [116] Madalena Chaves, Réka Albert und Eduardo D. Sontag. Robustness and fragility of boolean models for genetic regulatory networks. *Journal of Theoretical Biology*, 235(3):431–449, 2005.
- [117] Andreas Wagner. Circuit topology and the evolution of robustness in two-gene circadian oscillators. *PNAS*, 102(33):11775–11780, 2005.
- [118] Wenzhe Ma, Luhua Lai, Qi Ouyang und Chao Tang. Robustness and modular design of the drosophila segment polarity network. *Mol Syst Biol*, 2:70, 2006.
- [119] Camilla Trane und Elling W. Jacobsen. Network structure and robustness of intracellular oscillators. *Proceedings of the 17th World Congress, The International Federation of Automatic Control*, 2008.
- [120] Tiago P. Peixoto und Barbara Drossel. Noise in random boolean networks. *Physical Review E*, 79(3):036108, 2009.
- [121] Tiago P. Peixoto. The behavior of noise-resilient boolean networks with diverse topologies. *J. Stat. Mech.*, page P01006, 2012.
- [122] Tiago P. Peixoto. Emergence of robustness against noise: A structural phase transition in evolved models of gene regulatory networks. *Physical Review E*, 85:041908, 2012.
- [123] Maximino Aldana und Philippe Cluzel. A natural class of robust networks. *PNAS*, 100(15):8710–8714, 2003.
- [124] Fakhteh Ghanbernejad und Konstantin Klemm. Stability of boolean and continuous dynamics. *Physical Review Letters*, 107:188701, 2011.
- [125] Konstantin Klemm und Stefan Bornholdt. Topology of biological networks and reliability of information processing. *PNAS*, 102(51):18414–18419, 2005.
- [126] Roy Wilds und Leon Glass. An atlas of robust, stable, high-dimensional limit cycles. *International Journal of Bifurcation and Chaos*, 19:4055–4096, 2009.

- [127] Julio Aracena, Eric Goles, Andrés Moreira und Lilian Salinas. On the robustness of update schedules in boolean networks. *Biosystems*, 97:1–8, 2009.
- [128] Theodore J. Perkins, Roy Wilds und Leon Glass. Robust dynamics in minimal hybrid models of genetic networks. *Phil. Trans. R. Soc. A*, 368(1930):4961–4975, 2010.
- [129] E. Ackermann, T. P Peixoto und B. Drossel. Reliable dynamics in boolean and continuous networks. *New Journal of Physics*, 14:123029, 2012.
- [130] Houssine El Snoussi und René Thomas. Logical identification of all steady states: The concept of feedback loop characteristic states. *Bulletin of Mathematical Biology*, 55(5):973–991, 1993.
- [131] Erik Plahte und Sissel Kjølglum. Analysis and generic properties of gene regulatory networks with graded response functions. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 201(1-2):150–176, 2005.
- [132] Arne B. Gjuvsland, Erik Plahte und Stig W. Omholt. Threshold-dominated regulation hides genetic variation in gene expression networks. *BMC Systems Biology*, 1(57), 2007.

## DANKE

---

An erster Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Barbara Drossel dafür bedanken, dass ich die Möglichkeit hatte, in ihrer Arbeitsgruppe meine Doktorarbeit zu schreiben. Vor allem bin ich dankbar für ihre stete Unterstützung und sehr gute Betreuung: Die Mischung aus wöchentlichen Gruppentreffen und hilfreichen Diskussionen auf der einen Seite und einem großen Arbeitsfreiraum auf der anderen Seite hat mir sehr gefallen. Außerdem danke ich ihr für die Möglichkeit, an zahlreichen Konferenzen teilnehmen zu können. Mein herzlicher Dank gilt zudem Kay Hamacher für die Übernahme des Zweitgutachtens sowie Lotta und Tobi für wertvolle Kommentare zu meiner Arbeit. Allen derzeitigen und ehemaligen Mitglieder der gesamten Arbeitsgruppe möchte ich für die gute Atmosphäre, die verschiedensten Aktivitäten und gemeinsamem Konferenzbesuche in den letzten Jahren danken. Besonderer Dank gilt Tiago, Eva Marie und Torsten für die gute Zusammenarbeit. Anna, Anna, Gisela, Hajo, Juliane, Lotta, Meike und Tobi danke ich für viele aufbauende und/oder ablenkende Gespräche bei Spaziergängen, Mittagessen oder Kaffeetrinken.





## PUBLIKATIONEN

---

Während meiner Zeit als Doktorandin sind folgende Artikel entstanden. Die Inhalte dieser Arbeit basieren auf den Artikeln 1, 3 und 4.

1. Eva Gehrmann und Barbara Drossel. Boolean versus continuous dynamics on simple two-gene modules. *Physical Review E* 82: 046120, 2010.
2. Eva Gehrmann, Christine Gläßer, Yaochu Jin, Bernhard Sendhoff, Barbara Drossel und Kay Hamacher. Robustness of glycolysis in yeast to internal and external noise. *Physical Review E* 84: 021913, 2011.  
Diese Veröffentlichung wurde auch in einem Viewpoint Article in *Physics* 4: 63, 2011 diskutiert.
3. Eva Ackermann, Eva M. Weiel, Thorsten Pfaff und Barbara Drossel. Boolean versus continuous dynamics in modules with two feedback loops. *European Physical Journal E* 35 (10), 2012.
4. Eva Ackermann, Tiago P. Peixoto und Barbara Drossel. Reliable dynamics in Boolean and continuous networks. *New Journal of Physics* 14: 123029, 2012.